

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Analytická chemie



Jan Maška

ELEKTROCHEMICKÉ STANOVENÍ FOMESAFENU

Electrochemical Determination of Fomesafen

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Prof. RNDr. Jiří Barek, CSc.

Praha 2013

Tato diplomová práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857. Byla finančně podporována Grantovou agenturou České republiky (projekt P206/12/G151).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 26. srpna 2013.

Abstrakt

Předkládaná práce se zabývá aplikací voltametrického stanovení Fomesafenu pomocí netradiční rtuťovým meniskem modifikované pevné stříbrné amalgamové elektrody v modelových vzorcích pitné a říční vody. Tato metoda stanovení byla vyvinuta a optimalizována v rámci mé bakalářské práce, na níž předkládaná diplomová práce navazuje.

Fomesafen patří do skupiny herbicidů, v masovém měřítku používaných na sklonku 20. století v USA a v mnohých státech světa používaný dodnes. Mezi jeho nežádoucí účinky dle agentury EPA patří kromě jiných i potenciální karcinogenita pro člověka a potvrzená karcinogenita pro některé savce (například laboratorní potkany), které vedly k legislativnímu omezení jeho používání v mnoha státech světa včetně USA, státech Evropské Unie.

Pevná stříbrná amalgamová elektroda patří mezi elektrody vyvinuté se záměrem omezení užívání rtuti v souladu s novodobou legislativou Evropské Unie a konceptem zelené analytické chemie. Přes nízký obsah rtuti převážně vázaný ve formě prakticky neškodného stříbrného amalgamu si zachovává velmi podobné elektrochemické vlastnosti s osvědčenými rtuťovými elektrodami.

V rámci předkládané diplomové práce bylo provedeno přímé stanovení a řada dílčích extrakcí Fomesafenu z reálných matric pitné a říční vody a pokus o prekoncentraci látky pomocí adsorpční rozpouštěcí voltametrie. V rámci přímého stanovení bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ v pitné i říční vodě, v rámci extrakcí bylo při extrakci z pitné vody dosaženo nejnižší meze stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ při extrakci se stupněm prekoncentrace 100 a při extrakci z říční vody bylo dosaženo nejnižší meze stanovitelnosti též $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, avšak při extrakci se stupněm prekoncentrace 10.

Klíčová slova: fomesafen, diferenční pulsní voltametrie, adsorpční rozpouštěcí voltametrie, pevná stříbrná amalgamová elektroda, extrakce na tuhou fázi

Předmětová hesla: herbicidy, voltametrie, amalgamové elektrody, extrakce

Abstract

The submitted work deals with the application of voltammetric determination of Fomesafen using non-traditional mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode on model samples of Fomesafen in real aqueous matrices of drinking and river water. This method of measurement has been developed and optimized in my bachelor thesis, which the diploma thesis is related to.

Fomesafen belongs to a group of herbicides used on a mass scale in the late 20th century in the USA and in many countries around the world still used even today. Among its side effects according to the EPA include, among others, potential carcinogenicity to humans and confirmed carcinogenicity to some mammals (such as rats) which led to a legislative regulation on its use in many countries around the world including the USA, the European Union and many others.

Silver solid amalgam electrode has been developed with the intention to limit the use of mercury in accordance with new legislation of the European Union and the concept of green analytical chemistry. Despite the low levels of mercury mainly bound in the form of virtually harmless silver amalgam electrode retains very similar electrochemical properties with proven mercury electrodes.

As part of the thesis, direct determination of a number of partial extraction of Fomesafen real matrices and drinking river water and unsuccessfully attempted preconcentration of substances by adsorption stripping voltammetry was carried out. The limit of determination achieved via direct determination was $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ in the case of both drinking and river water. Within extractions, the lowest limit of determination achieved via extraction of drinking water was $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ applying the extraction with the level of preconcentration of 100 and the lowest limit of determination achieved via extraction of river water was $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ as well, the level of preconcentration applied in this case was 10 though.

Keywords: Fomesafen, differential pulse voltammetry, adsorptive stripping voltammetry, solid silver amalgam electrode, solid phase extraction

Subject headings: herbicides, voltammetry, amalgam electrodes, extraction

Poděkování

Rád bych poděkoval svému školiteli Prof. RNDr. Jiřímu Barkovi CSc., Mgr. Vítu Novotnému, RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, PhD. a všem členům Katedry analytické chemie PřF UK v Praze za odborné vedení, všestrannou pomoc a cenné rady. Též děkuji svým rodičům a přátelům za podporu, pochopení a hlavně trpělivost.

Obsah

Seznam použitých symbolů a zkratk	- 8 -
1. Úvod	- 10 -
2. Teoretická část	- 12 -
2.1 Cíl práce	- 12 -
2.2 Studovaná látka	- 12 -
2.2.1 Struktura a fyzikálně chemické vlastnosti	- 13 -
2.2.2 Toxicita	- 14 -
2.2.3 Použití	- 15 -
2.2.4 Metody stanovení	- 15 -
2.3 Měřicí techniky a elektrody	- 17 -
2.3.1 Polarografie a voltametrie	- 17 -
2.3.2. Amalgamové elektrody	- 17 -
2.3.3 Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda	- 19 -
3. Experimentální část	- 21 -
3.1 Reagencie	- 21 -
3.2 Aparatura	- 21 -
3.2.1 Pracovní elektroda	- 22 -
3.3 Pracovní postupy	- 22 -
4. Výsledky a diskuze	- 25 -
4.1 Stanovení Fomesafenu ve vodných matricích	- 25 -
4.1.1 Vliv MeOH na citlivost stanovení Fomesafenu	- 25 -
4.1.2 Přímé stanovení Fomesafenu ve vodných matricích	- 28 -
4.1.2.1 Přímé stanovení Fomesafenu v pitné vodě	- 28 -
4.1.2.2 Přímé stanovení Fomesafenu v říční vodě	- 31 -
4.1.3 Extrakce Fomesafenu z vodných matric	- 34 -
4.1.3.1 Extrakce Fomesafenu z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10	- 35 -

4.1.3.2 Extrakce Fomesafenu z destilované vody se stupněm prekoncentrace 100	- 39 -
4.1.3.3 Extrakce Fomesafenu z pitné vody se stupněm prekoncentrace 10	- 42 -
4.1.3.4 Extrakce Fomesafenu z pitné vody se stupněm prekoncentrace 100	- 45 -
4.1.3.5 Extrakce Fomesafenu z říční vody se stupněm prekoncentrace 10	- 48 -
4.1.3.6 Extrakce Fomesafenu z říční vody se stupněm prekoncentrace 100	- 51 -
4.2 Stanovení Fomesafenu pomocí Adsorpční rozpouštěcí voltametrie	- 54 -
4.3 Diskuze	- 57 -
5. Závěr	- 60 -
6. Literatura	- 61 -

Seznam použitých symbolů a zkratek

AdSV	adsorpční rozpouštěcí voltametrie (Adsorptive Stripping Voltammetry)
AgA-PE	elektroda se stříbrným pastovým amalgamem
AgSAE	stříbrná pevná amalgamová elektroda (Silver Solid Amalgam Electrode)
ASV	anodická rozpouštěcí voltametrie (Anodic Stripping Voltammetry)
BiF-MeSAE	MeSAE modifikovaná bismutovým filmem
BR pufr	Brittonův – Robinsonův pufr
c	molární koncentrace
CF-MeSAE	MeSAE modifikovaná uhlíkovým filmem
CFR	sbírka federálních nařízení (Code of Federal Regulations)
DAD	detektor s diodovým polem (Diode Array Detector)
DC polarografie	Polarografie se stejnosměrným proudem (Direct Current Polarography)
DME	klasická kapající rtuťová elektroda (Dropping Mercury Electrode)
DPP	diferenční pulsní polarografie (Differential Pulse Polarography)
DPV	diferenční pulsní voltametrie (Differential Pulse Voltammetry)
E	potenciál
E_p	potenciál píku
EPA	Agentura ochrany životního prostředí (Environmental Protection Agency)
FM	Fomesafen
GC	plynová chromatografie (Gas Chromatography)
Hg(Ag)FE	stříbrná amalgamová filmová elektroda
HMDE	visící kapková elektroda (Hanging Mercury Drop Electrode)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
I	elektrický proud
I_p	proud píku
K_{ow}	dělicí koeficient oktanol/voda
LC ₅₀	střední smrtná koncentrace

LDPH	herbicide uvolňující peroxid v závislosti na světle (Light Dependent Peroxidizing Herbicide)
L _Q	mez stanovitelnosti
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda (Mercury Meniscus Modified Silver Solid Amalgam Electrode)
m-MeSAE	MeSAE modifikovaná rtuťovým meniskem
MF-MeSAE	MeSAE modifikovaná elektrolyticky vyloučeným rtuťovým filmem
MeOH	metanol
MeSA-CE	kovová pevná amalgamová kompozitní elektroda
MeSA-PE	kovová pevná amalgamová pastová elektroda
MeSAE	kovová pevná amalgamová elektroda
N	pořadové číslo měření
NPD	selektivní detektor pro látky, které ve své struktuře obsahují atom dusíku, nebo fosforu
p-AgSAE	leštěná stříbrná pevná amalgamová elektroda (Polished Silver Solid Amalgam Electrode)
p-MeSAE	MeSAE s leštěným povrchem
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
PP	polypropylen
Q [*]	koeficient rakovinotvorného potenciálu
SAME	stříbrná amalgamová mikrodrátková elektroda
SCAgAE	elektroda tvořená jediným krystalem stříbrného amalgamu
SPE	extrakce na tuhou fázi
UV-VIS	ultrafialová - viditelná (Ultra Violet - Visible)
σ	směrodatná odchylka

1. Úvod

Jakkoliv dnešní technicky zaměřená doba je obecně v mnoha svých aspektech zdrojem značného množství různých nebezpečných látek dostávajících se do životního prostředí, mezi přední významné znečišťovatele jistě patří zemědělský průmysl.

Bez nadsázky lze říci, že moderní zemědělství se v současné podobě neobejde bez použití syntetických hnojiv a pesticidů. Problémy nastávají s případnými nežádoucími účinky zmíněných látek na životní prostředí, nezávisle na tom, jestli se jedná o nezamýšlené vedlejší účinky, nebo příliš dlouho přetrvávající účinky, kvůli kterým byly tyto látky použity. Problematická je též možná kontaminace zdrojů pitné vody, ke které dochází například zasakováním těchto látek do spodních vod či jejich splavováním do vodních toků. Látky používající se ke hnojení a ošetřování rostlin se tak šíří do značně širokého okolí. Vážnost situace vyplývá ze škály nežádoucích účinků některých těchto látek, která zahrnuje například toxické a karcinogenní účinky či schopnost modifikovat růst různých druhů rostlin a působící například hromadný úhyn biologické hmoty v důsledku jejího nadměrného růstu (eutrofizace). V případě persistentních látek vzniká nezanedbatelné riziko kontaminace oblastí vzdálených od místa použití, ve kterých je výskyt dané látky nezamýšlený a nanejvýš nevhodný.

Plošný výskyt takovýchto škodlivých látek v přírodě si vyžaduje nástroje analytické chemie, které by byly schopny tyto látky v nízkých koncentracích stanovit ať už pro účely preventivního monitorování osudu těchto látek či možnost případného zjištění blížící se ekologické katastrofy. V případě, že stanovovaná látka je elektrochemicky aktivní, patří mezi vhodné metody elektroanalytické chemie, které představují kvalitní alternativu vůči separačním a spektrometrickým metodám. Elektroanalytické metody jsou vhodné ať už pro svoji vysokou citlivost, selektivitu a robustnost umožňující jejich aplikaci i v průtokových systémech analytické chemie, či nízkou cenu a snadnost manipulace, které je činí způsobilými pro použití při velkoplošných analýzách.

Z důvodu veřejného nebezpečí, které tyto látky pro společnost znamenají, přistupují státy v této oblasti ke stále přísnější legislativní regulaci omezující užívání takovýchto látek. Obzvlášť přísné normy platí na území Evropské unie.

Tato diplomová práce se věnuje stanovení Fomesafenu (FM) v reálných vodních matricích. FM patří mezi aktivní látky některých pesticidů, v minulosti hojně využívaných zejména při pěstování sóji. Jako metoda stanovení byla zvolena voltametrická redukce pomocí stříbrné amalgámové elektrody modifikované rtuťovým meniskem. Výhoda

voltametrických metod obecně spočívá v jejich instrumentální nenáročnosti a nízkých pořizovacích nákladech. Zvolený typ elektrody na rozdíl od uspořádání se rtuťovou kapkovou elektrodou je méně problematický z hlediska legislativy Evropské unie, jež klade důraz na omezení použití kapalné rtuti z důvodů obav o dopad na životní prostředí, a splňuje požadavky tzv. zelené analytické chemie. Zaměření práce na aplikaci výše uvedené elektroanalytické metody na stanovení FM v reálných matricích pitné a říční vody vychází z požadavku prekoncentrace a separace látky důležitého pro analýzu reálných vzorků látky splavené do pitných vod a vodních toků, kde je látka velmi zředěná a v poměrně složité matrici.

2. Teoretická část

Předkládaná diplomová práce vypracovaná na téma „Elektrochemické stanovení Fomesafenu“ navazuje na mou předchozí kvalifikační – bakalářskou – práci s názvem „Polarografické a voltametrické stanovení Fomesafenu“ [1]. Vzhledem k vymezení tématu diplomové práce, které je vyústěním obecněji pojatého tématu bakalářské práce, jsou informace patřící do teoretické části práce již do značné míry již obsaženy v bakalářské práci. Z toho důvodu si dovoluji stručně parafrázovat informace týkající se stanovované látky, použité měřicí metody a pracovní elektrody již obsažené v bakalářské práci spolu s rozšířením o informace nové.

2.1 Cíl práce

Předkládaná diplomová práce navazuje na mou bakalářskou práci [1], která se zabývala možnostmi a parametry stanovení Fomesafenu pomocí polarografických a voltametrických metod na různých elektrodách a to zejména pomocí metod DCV, DPP a DPV a elektrod DME, HMDE a m-AgSAE. Jako nejvýhodnější technika ke stanovení Fomesafenu byla v bakalářské práci vyhodnocena technika stanovení DPV na m-AgSAE.

Diplomová práce využívá zkušeností získaných v bakalářské práci a zaměřuje se na využití této, v rámci předchozí práce optimální, metody stanovení Fomesafenu k dalšímu studiu možností stanovení. Zejména pak k přímému stanovení v modelových matricích pitné a říční vody a stanovení po SPE extrakci z modelových matric pitné a říční vody s cílem dosáhnout při stanovení v těchto reálných matricích co nejnižší meze stanovitelnosti. Dalším cílem práce bylo testovat některé další metody stanovení, které by mohly zvýšit citlivost stanovení a to především adsorpční rozpouštěcí voltametrii (AdSV) na m-AgSAE.

2.2 Studovaná látka

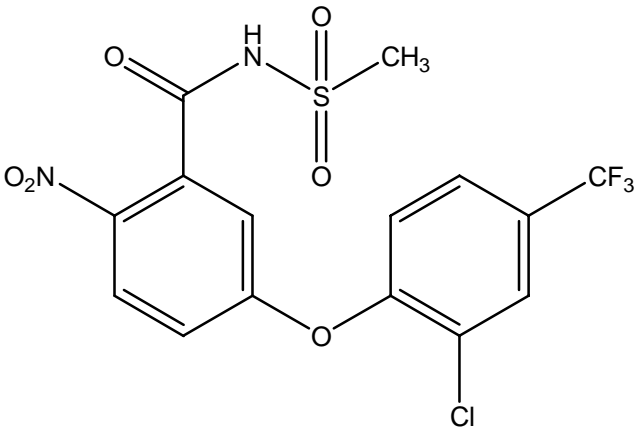
Látka, kterou se práce zabývá je Fomesafen, difenylether používaný v zemědělství jako herbicid, který je nyní řazen mezi pravděpodobné lidské karcinogeny. Látka je vhodná pro voltametrické stanovení díky přítomnosti nitro skupiny na aromatickém jádře, která při záporných potenciálech podléhá katodické redukci.

2.2.1 Struktura a fyzikálně chemické vlastnosti

Fyzikálně-chemické údaje o studované látce známé pod komerčním názvem Fomesafen jsou přehledně shrnuty v Tab. 1 a Tab. 2, převzaté z bakalářské práce [1-5].

Tab. 2.1

Nomenklatura Fomesafenu (převzato z BP [1]).

Název	Fomesafen
Molekulární vzorec	$C_{15}H_{10}ClF_3N_2O_6S$
Molekulová hmotnost	438,77
IUPAC Name	5-(2-chloro-a,a,a-trifluoro-p-tolyloxy)-N-methylsulfonyl-2-nitrobenzenamide
CAS Name	5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenoxy]-N-(methylsulfonyl)-2-nitrobenzenamide
CAS Registry Number	72178-0
Chemická struktura	

Tab. 2.2

Fyzikálně chemické vlastnosti Fomesafenu (převzato z BP [1]).

Rozpustnost	Aceton	300 g·dm ⁻³
	Cyklohexan	150 g·dm ⁻³
	Methanol	25 g·dm ⁻³
	Hexan	0,5 g·dm ⁻³
	Xylen	1,9 g·dm ⁻³
Tlak par	7,5·10 ⁻⁷ mm Hg při 50 °C	
Disociační konstanta (H ₂ O)	2,7 při 20 °C	
Oktanól/voda dělicí koeficient	log K _{ow} = 2,9 při pH 1	
Bod tání	220-221 °C	
Hustota	1,28 g·cm ⁻³	

2.2.2 Toxicita

Fomesafen byl toxikologicky testován se závěrem, že se jedná o potenciální lidský karcinogen, dle klasifikace EPA je systematicky řazen do kategorie C [6]. Klasifikace vychází zejména z toxikologických testů prováděných na potkanech, u nichž byl prokázán růst adenomasy a karcinomasy v souvislosti s dávkováním Fomesafenu. Ve studii je hodnocen i faktor strukturní podobnosti Fomesafenu s jinými difenylethery, které jsou již prokázanými karcinogeny [7].

Fomesafen byl však především používán v širokém měřítku jako herbicid [8], neboť v poměrně silné míře způsobuje inhibici růstu rostlin, je řazen do skupiny fototoxických pesticidů nazývaných LDPH's (Light Dependent Peroxidizing Herbicides). Přestože bylo používání Fomesafenu povětšinou zakázáno, z důvodu někdejšího širokého využívání a v některých částech světa dokonce stálému využívání této látky s přihlédnutím k toxikologickým vlastnostem, je možnost jednoduchého stanovení v přírodních matricích velmi důležitá [9, 10]. Podrobnější informace jsou uvedeny v bakalářské práci [1], na kterou tato práce navazuje.

Tab. 2.3

Přehled toxických vlastností Fomesafenu vůči vybraným živočichům vyjádřená pomocí LC50 [9]. (Převzato z BP [1])

živočišný druh	LC ₅₀ (ppm)
kachna divoká	5000
laboratorní potkan	1858
laboratorní myš	766
morče	607

2.2.3 Použití

Fomesafen byl průmyslově vyráběn již od roku 1977, kdy došlo k jeho první syntéze, a je znám pod řadou obchodních názvů jako například Twister, Reflex, Tornado, Flexstar či Typhoon [11]. Jako aktivní složka herbicidů byl ve velkém měřítku používán jak v USA tak v Evropě. Po roce 2000 však bylo jeho užívání zásadně omezeno. Evropská komise zakazuje jeho užívání v roce 2003 [11], v USA pak prostřednictvím agentury CFR (Code of Federal Regulations) bylo vyhláškou omezeno jeho užívání tak, že je možné užití pouze sodné soli Fomesafanu s horním limitem koncentrace 0,05 ppm na plodiny sóji, od roku 2004 pak již jen jeho disodnou sůl [11]. Podrobnější informace jsou uvedeny v bakalářské práci [1], na kterou tato práce navazuje.

2.2.4 Metody stanovení

Vzhledem k tomu že prakticky jediné využití Fomesafenu je příměs v průmyslově vyráběných pesticidech, převážně mimo hranice Evropské Unie, není nijak překvapivé, že většina prací se věnuje dopadu Fomesafenu buď na životní prostředí jako celek, nebo na rostliny, jež se jím ošetřují.

Metoda vhodná ke stanovení Fomesafenu v rostlinné matrici je dle studie EPA [2] HPLC s UV detekcí (HPLC/UV) s označením GMA-RM-001/86. Tato metoda byla záhy organizací EPA validována. Nicméně společnost Syngenta předložila k posouzení novou metodu stanovení stopového množství Fomesafenu založenou na technice plynové chromatografie s NP detektorem (GC/NPD) s označením TMR 0836B [2]. Účelem bylo zefektivnit proceduru stanovení množství Fomesafenu v sojových výrobcích. Nespornou výhodou GC/NPD oproti HPLC/UV je nižší mez stanovitelnosti. Proces extrakce je

podobný jako u prve zmíněné metody, rozdíl spočívá především v methyloaci Fomesafenu, která umožňuje jeho GC stanovení.

Metoda je mimo jiné vhodná též k použití pro analýzu vzorků připravených z kultur fazolu obecného. Společnost Syngenta uvedla mírně modifikovanou verzi této metody pod kódovým označením TMR0800B, jež měla sloužit k stanovení stopového množství Fomesafenu ve vzorcích připravených z bavlněných výrobků. Vyvinutí metod stanovení stopového množství Fomesafenu v masných produktech nebylo agenturou EPA požadováno.

Za pomoci výše zmíněných metod byl zjištěn obsah residuů sodné soli Fomesafenu v různých rostlinných výrobcích. Obsah Fomesafenu v destilátu bavlny byl 0,02 ppm, v semenech bavlny 0,025 ppm, v kulturách fazolu obecného (*Phaseolus vulgaris*) 0,02 - 0,025 ppm, v zrnech sóji 0,029 ppm a v semenech sóji 0,02 ppm [2].

Další často ke stanovení FM používanou možností je metoda HPLC v kombinaci s hmotnostní detekcí. Příkladem budiž společné stanovení Fomesafenu s dalšími kyselými pesticidy ve vzorcích odebraných ze zbytků zemědělských produktů pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (TOF). Dosažený LOD pro Fomesafen ve vzorcích odebraných z potravy byl $0,5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ [12]. Dále lze zmínit sledování Fomesafenu v rámci studie stanovení pesticidů a jejich transformačních produktů ve vodě za pomoci HPLC s MS detekcí v tandemovém uspořádání [13], nebo stanovení FM v rámci studie zaměřující se na stanovení zbytků herbicidů pomocí HPLC s MS detekcí opět v tandemovém uspořádání po různých způsobech extrakce herbicidů z různých druhů půd [14]. Analyzovaný koncentrační rozsah činil u všech herbicidů v této studii $1\text{-}200 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$. Nejnižší meze stanovitelnosti se pohybovaly mezi $0,13$ a $0,36 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ [14]. Řadu dalších odkazů na metody stanovení Fomesafenu lze najít v bakalářské práci [1] na kterou tato diplomová práce navazuje.

Během posledních dvou let od vydání mé bakalářské práce bylo provedeno ještě několik studií zabývajících se stanovením Fomesafenu.

Výskyt různých herbicidů v povrchových vodách v centrální Kanadě mapuje environmentální studie z roku 2011 [15]. Vzorky povrchových vod byly zpracovány pomocí extrakce na tuhou fázi (SPE), následně prekoncentrovány a analyzovány pomocí HPLC s MS detekcí za použití elektrospreje. Identifikace byla provedena pomocí MRM (multiple reaction monitoring), přičemž Fomesafen patřil v rámci této studie mezi nejběžněji detegované látky (25,3 %) a jeho maximální zjištěná koncentrace ve odebíraných vzorcích byla 873 ng/dm^3 .

Vzhledem k zaměření této práce je zajímavá následující studie zabývající se elektrochemickou oxidací Fomesafenu na anodě o chemickém složení $\text{Ti/SnO}_2\text{-Sb}_2\text{O}_5/\text{PbO}_2$, která byla studována pomocí cyklické voltametrie [16] v roztoku síranu sodného. Bylo zjištěno, že pro vyšší účinnost elektrochemické oxidace Fomesafenu je vhodné kyselé prostředí. K monitorování probíhající studie a ověření dosažených výsledku byly použity především metody cyklické voltametrie a UV/VIS spektrofotometrie, dále též HPLC. Výsledkem práce byla demonstrace možnosti využití oxidace Fomesafenu k odstranění stopových množství Fomesafenu v odpadních vodách.

Dále byla v roce 2011 vypracována případová studie Fomesafenu Danem Cambelem a kolektivem v rámci společnosti Syngenta [17].

2.3 Měřicí techniky a elektrody

2.3.1 Polarografie a voltametrie

Vývoj polarografie a voltametrie spolu úzce souvisí. Zakladatelem polarografie byl Jaroslav Heyerovský, který metodu objevil [18]. Tento článek je pro Polarografii též považován za zakladatelský. Obdobím největšího rozvoje a popularity této metody byla 40. a 50. léta, kdy byla standardně používána ke stanovení zvláště anorganických, ale též organických látek a vykazovala na tu dobu vynikající lineární dynamický rozsah v koncentračním rozmezí 10^{-3} až $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Určitý pokles významu polarografie v 60. letech byl způsoben především nástupem nových citlivých separačních a spektrometrických metod. Opětné zvýšení zájmu o polarografii a od ní odvozených metod přinesl rozvoj metod normální a diferenční pulsní polarografie a voltametrie, které posunuly možnost stanovení do koncentračního řádu 10^{-7} až 10^{-8} M . V případě možnosti prekoncentrace analytu na povrchu pracovní elektrody pomocí modernějších voltmetrických technik ASV [19] a AdSV [20], dosahuje mez stanovitelnosti u vybraných látek až ke koncentračnímu řádu 10^{-11} až 10^{-12} M . S tím souvisí i postupný přechod od polarografických metod využívajících klasickou DME k voltmetrickým metodám DPV, ASV a AdSV využívajícím jiných elektrod než DME, například HMDE. Podrobnější informace je možné najít v bakalářské práci [1], na níž tato práce navazuje.

2.3.2. Amalgamové elektrody

Hlavním impulsem k vývoji těchto elektrod bylo legislativní omezení používání

rtuti v Evropské Unii [21-23], která do té doby představovala nejoblíbenější a prakticky optimální elektrodový materiál pro katodickou redukci. Z toho důvodu byla při vývoji zaměřena pozornost na materiál po stránce elektrochemické rtuti co nejbližší a zároveň netoxický. Amalgám tyto požadavky splňuje dokonale [24], o jeho bezpečnosti vypovídá i jeho dlouhodobé používání ve stomatologii.

Amalgamové elektrody vešly do obecného povědomí v roce 2000 zakládajícími pracemi Pražské a Troidheimské vědecké skupiny [24, 25]. Od doby jejich uvedení se variace amalgamových elektrod poměrně rozrostla a zahrnuje mnoho různých provedení a koncepcí. Obecně vzato lze amalgamové elektrody rozdělit na pevné a pastové (popř. i tekuté). Amalgamové elektrody mohou obsahovat různé kovy a mohou být použity ke stanovení různých organických i anorganických látek.

Elektroda koncipovaná Troidheimskou [25] skupinou spočívá v použití zubařského dentálního stříbrného amalgamu, který je ve formě pasty umístěn do těla elektrody, kde ztuhne. Elektroda vyvinutá pražskou skupinou (MeSAE) [24] spočívá v jemném kovovém prášku napěchovaném ve skleněné kapiláře, která je ponořena do kapalné rtuti a postupnou amalgamací dává vzniknout krystalickému amalgamu daného kovu (např. Hg, Au, Ag, Cu). Elektroda pak může mít různé modifikace povrchu, ať již jednoduché vyleštění (p-MeSAE), modifikace rtuťovým meniskem (m-AgSAE), elektrolyticky vyloučeným rtuťovým filmem (MF-MeSAE), uhlíkovým filmem (CF-MeSAE) [26] či bismutovým filmem (BiF-MeSAE) [27]. Při modifikacích povrchu elektrody materiálem s odlišnými elektrochemickými vlastnostmi (např. C či Bi) pak MeSAE přejímá pouze roli vodiče a elektrochemické chování elektrody odpovídá aktuální povrchové modifikaci. V poslední době byla provedena i modifikace elektrody, kde bylo k výrobě elektrody místo stříbrného prášku užito stříbrných nanočástic [28]. Z amalgamových elektrod s různými kovy se postupně nejvíce osvědčila (pevná) stříbrná amalgamová elektroda (AgSAE), která je z hlediska elektrochemických vlastností též nejpodobnější samotným rtuťovým elektrodám (viz například při srovnání charakteristických potenciálů píků různých látek získaných pomocí AgSAE a HMDE) [24]). Obvykle však amalgamové elektrody vykazují oproti rtuťovým elektrodám o něco nižší citlivost.

Pražská výzkumná skupina se od uvedení MeSAE zabývá možnými koncepcemi amalgamových elektrod [29]. Další pevnou amalgamovou elektrodou, která byla vyvinuta, je pevná amalgamová kompozitní elektroda (MeSA-CE), jež obsahuje zrnka pevného amalgamu určitého kovu v izolujícím materiálu na bázi epoxydové pryskyřice [30]. Povrch elektrody se upravuje/obnovuje přeleštěním a jeho elektroaktivní část sestávající z většího

množství relativně malých kruhových terčků funguje jako pole mikroelektrod. Jejich povrch lze též modifikovat jako v případě elektrod MeSAE.

Vedle pevných amalgamových elektrod byly vyvinuty elektrody pastové, které lze rozdělit na dva typy dle povahy amalgamové pasty. První typ elektrod je MeSA-PE, amalgamová pasta je zde tvořena jemným práškem pevného amalgámu smíseného s pastující kapalinou (minerálový, silikonový nebo parafinový olej) v určitém poměru [29]. Výhodou elektrody je snadná obnovitelnost povrchu vytlačením pasty z těla elektrody (kam byla natlačena) a otřením o papír, popř. přeleštěním o sklíčko. Tento typ elektrody je ve své podstatě analogií osvědčené uhlíkové pastové elektrody [31], rozdíl spočívá především v rozdílné povaze složení a velikosti pevných částic vodivého materiálu. Druhý typ amalgamové pasty je dán rozdílným složením samotného amalgámu, který obsahuje kapalnou rtuť ve vyšším poměru vůči kovovému prášku a vzniká tak amalgám pastové konzistence [32]. Pastová amalgamová elektroda AgA-PE je pak tvořena pastovým stříbrným amalgamem umístěným v těle elektrody s přivedeným kontaktem. Jednoduchá konstrukce elektrodu umožňuje její snadnou přípravu a jednorázové použití [33].

Rodinu amalgamových elektrod dále doplňuje amalgamová mikroelektroda tvořena jediným vhodně tvarovaným krystalem stříbrného amalgámu SCAgAE [34], kterou je možné využít například pro elektroanalytické aplikace v mikroměřítku (lab on chip).

Možná jsou i odlišná uspořádání, například průtokový tubulární detektor s pevným stříbrným amalgamem [35].

Vedle těchto elektrod vyvinutých v Heyerovského ústavu se v poslední době objevily i jiné provedení amalgamových elektrod, jako například amalgamová mikrodrátková elektroda (SAME) [36] či elektrod na bázi útvarů mikro a nano amalgamových drátků a koulí [37]. Filmová amalgamová elektroda se stříbrným amalgamem (Hg(Ag)FE) [38], pevná amalgamová elektroda se stříbrnými nanočásticemi [28], technika používající amalgamové kapky [39] či amalgamem modifikované screen-printed elektrody [40].

2.3.3 Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda

Pro účely této práce byla vybrána rtuťovým meniskem modifikovaná pevná stříbrná amalgamová elektroda (m-AgSAE), která se svými vlastnostmi blíží nejvíce tekuté rtuti a obnova jejího povrchu je možná i prostou reamalgamací, případným přeleštěním, přičemž mezi měřeními byl povrch průběžně udržován pomocí elektrochemické regenerace a na

počátku měření elektrochemicky aktivován. Vzhledem k minimálnímu množství použité tekuté rtuti, se koncepce elektrody snaží vyjít vstříc konceptu zelené analytické chemie. Podrobnější informace je možné najít v bakalářské práci [1], na kterou tato diplomová práce navazuje.

3. Experimentální část

3.1 Reagencie

Zásobní roztok Fomesafenu (FM) o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,0448 g čisté látky (99% pestanal, Aldrich) ve 100 ml methanolu (99,9 % p.a., Merck). Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku methanolem. Stálost zásobního roztoku byla testována v rámci předcházející bakalářské práce [1] opakovaným spektrofotometrickým stanovením zásobního roztoku po dobu 3 měsíců, výsledky nevykazovaly statisticky významnou odchylku. Zásobní roztok byl na počátku diplomové práce pro ověření stálosti roztoku opět spektrofotometricky stanoven, přibližně rok od započetí měření stálosti zásobního roztoku, opět nedošlo ke statisticky významné změně absorbance roztoku. Všechny roztoky byly uchovávány ve tmě za laboratorní teploty.

Další použité chemikálie: kyselina boritá, kyselina octová, kyselina fosforečná, hydroxid sodný, chlorid draselný, disodná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové byly všechny čistoty p.a. (Lachema Brno, ČR).

Brittonovy-Robinsonovy tlumivé roztoky [41] o příslušném pH byly připraveny smísením $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH s roztokem obsahujícím kyselinu boritou, fosforečnou a octovou, každou o koncentraci $0,04 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH metrem (Jenway Ltd., UK) s kombinovanou skleněnou elektrodou (typ 924 005).

Fosfátový pufr o příslušném pH byl připraven smísením roztoku NaOH o koncentraci $2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a roztoku kyseliny fosforečné o koncentraci $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH metrem (Jenway Ltd., UK) s kombinovanou skleněnou elektrodou.

Pro přípravu vodných roztoků byla používána deionizovaná voda získaná z Milli-Q plus systému (Millipore, USA).

Pitná voda byla získána z vodovodního řádu v budově PřF UK (ponecháno odtéct 5 min.), říční voda byla odebrána z Vltavy v Praze v oblasti Karlínského nábřeží (odebíráno u břehu v hloubce cca 10 cm).

3.2 Aparatura

Při všech stanoveních byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro verze 5.1 (obojí Eco-Trend Plus, Praha). Software pracoval v operačním systému

Windows XP.

Jednotlivá měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení, kde byla jako pracovní elektroda použita m-AgSAE, (podrobnější informace k pracovní elektrodě jsou uvedeny níže v podkapitole 3.2.1.), jako referentní elektroda byla použita elektroda argentochloridová ($1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ KCl}$) a jako pomocná elektroda byl použit platinový plíšek.

Extrakce na tuhou fázi byla prováděna pomocí extrakčních kolonek LiChrolut RP-18 (Merck, Německo). Kolonky obsahují náplň silikagelových částic o velikosti 40-63 μm pokrytých vrstvou oktadecylové fáze (RP-18) o celkové hmotnosti 200 mg. Kolonky jsou vyrobeny z PP, samotný rozměr kolonek odpovídá objemové kapacitě 3 ml (velikost pórů silikagelových částic je 6 nm, specifický povrch částic je $600 \text{ m}^2/\text{g}$, stabilita pH 2-8).

Spektrofotometrická měření byla prováděna na přístroji DAD UV-VIS spektrofotometr (Agilent, USA) v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1 cm (spektrofotometrické stanovení FM) a 0,1 cm (testování stálosti zásobního roztoku).

3.2.1 Pracovní elektroda

Při DPV stanovení FM byla jako pracovní elektroda použita m-AgSAE (Eco-Trend Plus, Praha). Pro m-AgSAE byla použita rychlost nárůstu potenciálu $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, modulační amplituda -50 mV a šířka pulsu 100 ms se vzorkováním proudu během posledních 20 ms pulsu.

V rámci měření byly prováděny s elektrodou tři operace, kterými byl čištěn a obnovován povrch elektrody: 1) Amalgamace: Ponořením elektrody do kapalně rtuti asi na 15 s a mírným zamícháním/potřepáním se obnovil celý rtuťový meniskus. Amalgamace byla prováděna vždy na začátku pracovního dne. 2) Elektrochemická aktivace: Aktivace byla prováděna v roztoku $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ KCl}$, který byl probubláván dusíkem při vloženém potenciálu -2,2 V po dobu 300 s. Aktivace byla prováděna po amalgamací, při poklesu signálu elektrody či při přerušení práce na dobu delší než jednu hodinu. 3) Regenerace: Skokové střídání kladnějšího konstantního potenciálu $E_{\text{in}} = -80 \text{ mV}$ a zápornějšího konstantního potenciálu $E_{\text{fin}} = -1100 \text{ mV}$ v intervalech 0,05 s po dobu 30 s. Elektrochemická regenerace končila vždy při zápornějším potenciálu.

3.3 Pracovní postupy

Příprava vzorku se liší podle toho, jedná-li se o modelový vzorek nebo slepý vzorek. *Příprava modelového vzorku* spočívala v přidání příslušného známého množství

zásobního roztoku Fomesafenu v MeOH ($c = 10^{-3}$ M) do vodné matrice o určitém objemu pro získání výsledné koncentrace FM ve vodné matrici. Před extrakcí byl modelový vzorek modifikován stopovým množstvím MeOH a BR pufru (pH 7) – obojí o koncentraci 1 % (objemově) ve výsledném roztoku. *Příprava slepého vzorku* je obdobná jako příprava modelového vzorku s tím rozdílem, že slepý vzorek neobsahuje Fomesafen.

Příprava roztoků pro určení vlivu MeOH na velikost signálu FM byla provedena tak, že k roztoku BR pufru pH 2 (resp. 8) a destilované vody v poměru 1:9 bylo přidáno příslušné množství zásobního roztoku FM a doplněno MeOH tak, aby koncentrace MeOH v roztoku byla 0-50 % (objemově).

Příprava roztoků pro přímé stanovení Fomesafenu v matrici pitné nebo říční vody byla provedena následujícím způsobem: Do 10 ml odměrné baňky byl k modelovému vzorku přidán 1 ml fosforečného pufru o pH 2. Pro lepší rozpustnost Fomesafenu ve vodné matrici bylo k modelovým vzorkům o koncentraci FM v rozsahu $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ přidáno ještě patřičné množství MeOH, aby výsledná koncentrace MeOH v roztoku byla 30 % (viz kapitola 4.1.1 – Vliv MeOH na citlivosti stanovení Fomesafenu). Takto připravený roztok byl před provedením záznamu DP voltamogramu promíchán a 5 minut probublán dusíkem.

Extrakce vodného roztoku byla provedena následovně: kolonka byla nasazena na speciální vakuovou nádobu, jež byla připojena k vývěvě. Regulovaný podtlak byl udržován na hodnotách přibližně 45 kPa. Hodnota průtokové rychlosti se pohybovala okolo $5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Aktivace kolonky byla provedena promytím 5 ml MeOH a poté 5 ml destilované vody.

Vzorek o celkovém objemu 100 ml s matricí destilované/pitné/říční vody byl prosát extrakční kolonkou.

Příprava roztoku k měření po extrakci vzorku probíhá následovně. Zachycený extrakt (Fomesafen a případně i složky matrice) v kolonce byl eluován 1 ml MeOH do 10 ml odměrné baňky. V případě: i) *prekoncentračního stupně 10* byl eluát v baňce doplněn po rysku fosforečným pufrem pH 2. Roztok byl promíchán a 5 minut probublán dusíkem. ii) *prekoncentračního stupně 100* byl 1 ml eluátu probubláván dusíkem, dokud nebylo dosaženo úplného odpaření MeOH a odparek byl rozpuštěn v 1 ml fosforečného pufru pH 2. Roztok byl 1 minutu probublán dusíkem.

Příprava tzv. srovnávacího roztoku probíhá obdobně jako standardní příprava roztoku k měření vyextrahovaného vzorku, avšak s následujícími specifiky. K přípravě roztoku se použije extrakt slepého vzorku, jinak se postupuje dle postupu ad i) nebo ad ii)

dle aktuálního stupně prekoncentrace. Na konci přípravy se do roztoku přidá standardní přídavek Fomesfenu, jehož látkové množství je stejné jako látkové množství Fomesafenu použité k přípravě modelového vzorku, vůči kterému je po jeho extrakci srovnávací roztok porovnáván.

Následně se provede záznam získaného roztoku metodou DPV/m-AgSAE.

Při měření pomocí AdSV bylo do 10 ml odměrné baňky odpipetováno příslušné množství zásobního roztoku studované látky, přidán 1 ml methanolu a následně byl roztok doplněn BR pufrům o příslušném pH (pH 2 nebo pH 8) po rysku. Takto připravený roztok byl po promíchání převeden do polarografické nádoby a zbaven kyslíku pětiminutovým probubláváním dusíkem. Poté byl proveden záznam voltametrické křivky. Mezi sérií záznamů křivek či při změně měřeného roztoku byl roztok probubláván po dobu 300 s.

Křivky byly měřeny alespoň třikrát po sobě a poté statisticky vyhodnoceny. U přímého stanovení FM ve vodných matricích byla z opakovaného stanovení vypočtena směrodatná odchylka, která je v grafech kalibračních závislostí přímého stanovení uvedena ve formě chybových úseček.

Extrakce stejně jako následná stanovení extrahovaných vzorků byla vždy prováděna třikrát. Z opakovaných stanovení extrahovaných vzorků byl vypočten průměr stanovení. Ze získaných průměrných stanovení byla vypočtena směrodatná odchylka opakované extrakce, která je v grafech kalibračních závislostí jednotlivých extrakcí vyjádřena pomocí chybových úseček. Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

Mez stanovitelnosti byla počítána podle vzorce $L_Q = 10 \sigma/S$, kde σ je směrodatná odchylka série 10-ti následných stanovení Fomesafenu o nejnížší vyhodnotitelné koncentraci a S je směrnice kalibrační závislosti v nejnížším koncentračním rozmezí [42]. Všechny statistické výpočty byly provedeny pomocí programu MS Office Excel.

4. Výsledky a diskuze

4.1 Stanovení Fomesafenu ve vodných matricích

V rámci návaznosti této diplomové práce na předchozí bakalářskou práci [1] byla pro stanovení FM zvolena technika DPV/m-AgSAE a kyselé prostředí (fosfátový pufr pH 2), neboť tato metoda byla v rámci bakalářské práce vyhodnocena jako optimální. Tato diplomová práce se pak zaměřila na praktickou aplikaci této metody na stanovení Fomesafenu v reálných vodných matricích pitné a říční vody. Jedná se o stanovení v modelových vzorcích (tj. vzorcích, které byly připraveny pro modelové stanovení přidáním standardního přídatku Fomesafenu do vodných matric). Stanovení v modelových vzorcích je jednak přímé a dále s předchozí extrakcí na tuhou fázi (SPE), která slouží k eliminaci nežádoucích matricových efektů, které by mohly stanovení negativně ovlivnit, ale zároveň plní také funkci prekoncentrační. Postup přípravy modelových vzorků pro přímé stanovení i SP extrakci je uveden v kapitole 3.3 – Pracovní postupy.

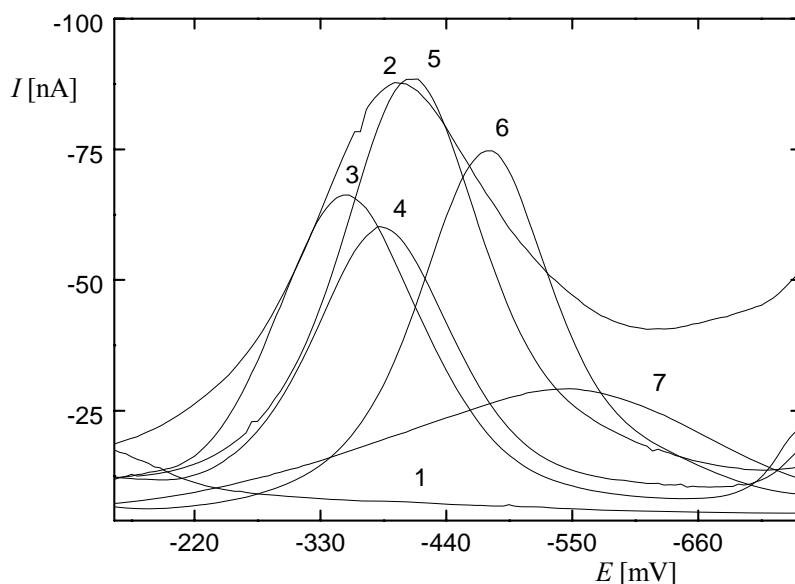
4.1.1 Vliv MeOH na citlivost stanovení Fomesafenu

Pro účely stanovení Fomesafenu ve vodných matricích v studovaném koncentračním rozsahu byla provedena studie vlivu množství MeOH na velikost signálu látky při určité dané koncentraci. Vzhledem k relativně nízké rozpustnosti Fomesafenu ve vodě docházelo při měření vyšších koncentrací Fomesafenu k přecházení látky z roztoku do pevného stavu. Při zvyšování množství MeOH v roztoku obsahující vyšší koncentraci Fomesafenu (odpovídající přibližně $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) se signál stanovované látky při dané koncentraci zvyšoval až do předpokládaného rozpuštění látky, s dalším zvyšováním MeOH začal signál stanovované látky opět klesat. V rámci studie byl měřen vliv množství MeOH na velikost signálu Fomesafenu při koncentraci FM $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a optimální množství MeOH při kterém byl naměřen nejvyšší signál Fomesafenu bylo 30 % MeOH (viz Obr 4.2).

Při testování vlivu množství MeOH na velikost signálu Fomesafenu bylo při nižších koncentracích Fomesafenu zjištěno, že nejvyšší signál látka poskytuje v roztoku bez přídatku MeOH a se zvyšujícím se množstvím MeOH v měřeném roztoku je pozorován pokles velikosti signálu stanovované látky (závislost byla měřená při koncentraci $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, viz Obr 4.4). Tento jev lze vysvětlit tak, že při nižších koncentracích Fomesafenu ve vodném roztoku je rozpustnost Fomesafenu ve vodě dostatečná aby byl

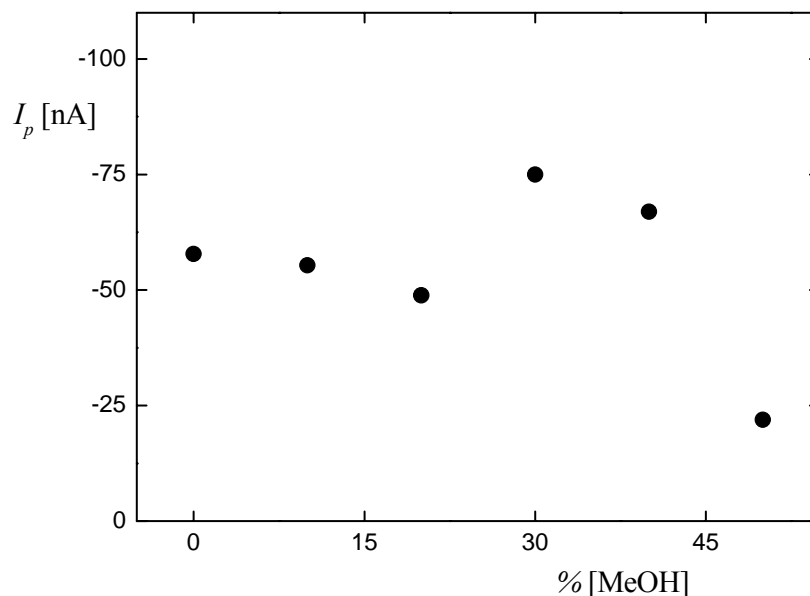
plně rozpuštěn. Z toho důvodu přidavek MeOH nezvyšuje množství Fomesafenu v roztoku (tím, že by se dodatečně rozpustil) a jeho přidavek způsobuje pouze snižování signálu stanovované látky. V případě obou závislostí byl rovněž pozorován posun potenciálu píku s přidávaným množstvím methanolu do zápornějších hodnot (až na drobné odchylky od trendu, které byly marginálního charakteru). Tento trend vypovídá o zvyšujícím se množství energie (zvyšující se záporný potenciál), které je třeba vynaložit na přenos elektronu při elektrodové reakci se zvyšujícím se množstvím MeOH. Vypovídá to tedy o skutečnosti, že MeOH má inhibující účinek na přenos elektronu při elektrodové reakci. Jistou roli může hrát i změna pH s rostoucím obsahem MeOH.

Z důvodů výše uvedených při vyšších koncentracích Fomesafenu v roztoku, tj. $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, byl používán roztok obsahující 30 % MeOH a při nižších koncentracích Fomesafenu, tj. $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a méně, již MeOH do roztoku přidáván nebyl. K výše popsané studii vlivu množství MeOH na velikost signálu stanovovaného Fomesafenu jsou pro ilustraci uvedeny záznamy voltamogramů na Obr. 4.1 a Obr. 4.3 a příslušné závislosti výšky signálu Fomesafenu na množství přítomného MeOH na Obr. 4.2 a Obr. 4.4. Přitom Obr. 4.1 a Obr. 4.2 se týkají vyšších koncentrací Fomesafenu $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a Obr. 4.3 a Obr. 4.4 se týkají nižších koncentrací Fomesafenu $(1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ a méně})$.



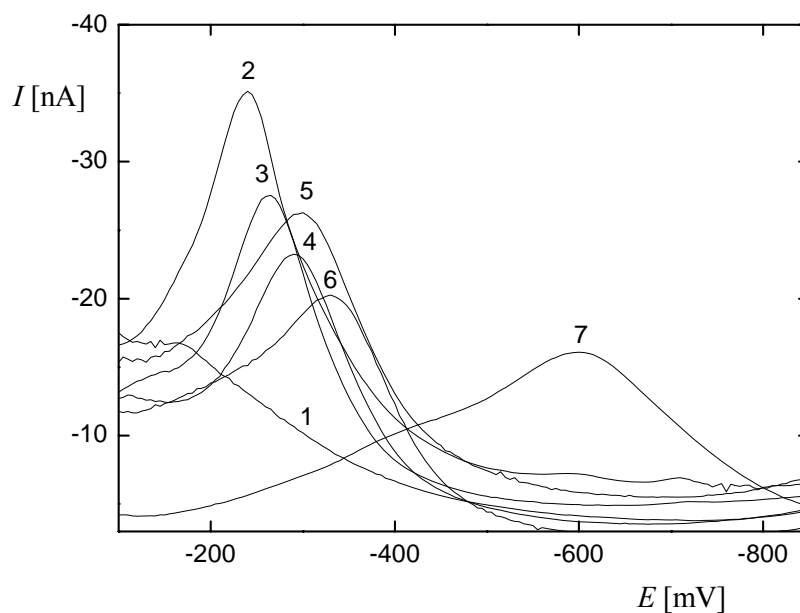
Obr. 4.1

DP voltamogramy FM ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) na m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2 : dest. voda s proměnným množstvím MeOH. Křivka 1 odpovídá základnímu elektrolytu. Křivky 2-7 odpovídají roztoku FM s proměnným množstvím MeOH. Množství MeOH v měřeném roztoku [%]: 0 (1), 0 (2), 10 (3), 20 (4), 30 (5), 40 (6), 50 (7).



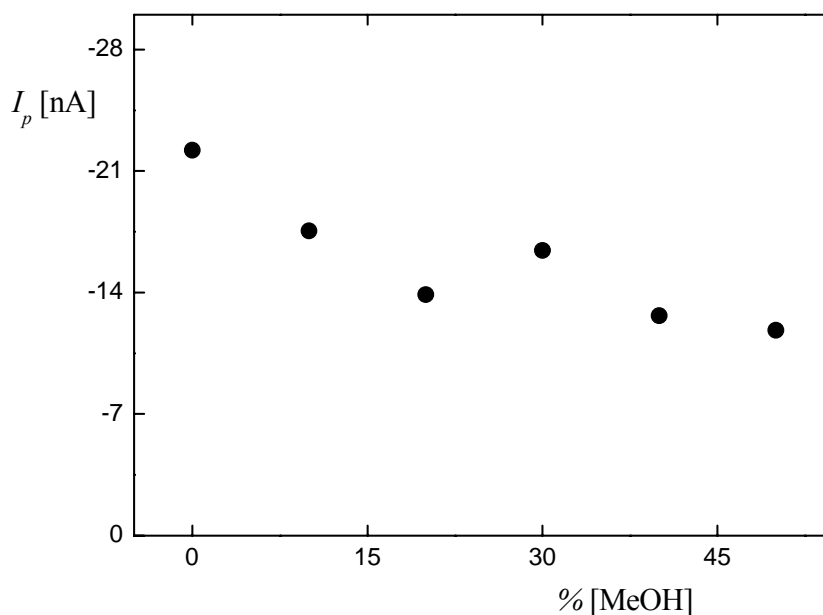
Obr. 4.2

Závislost výšky píku FM ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) na množství MeOH v roztoku. Měřeno pomocí DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2 : dest. voda s proměnným množstvím MeOH.



Obr. 4.3

DP voltamogramy FM ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) na m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2 : dest. voda s proměnným množstvím MeOH. Křivka 1 odpovídá základnímu elektrolytu. Křivky 2-7 odpovídají roztoku FM s proměnným množstvím MeOH. Množství MeOH v měřeném roztoku [%]: 0 (1), 0 (2), 10 (3), 20 (4), 30 (5), 40 (6), 50 (7).



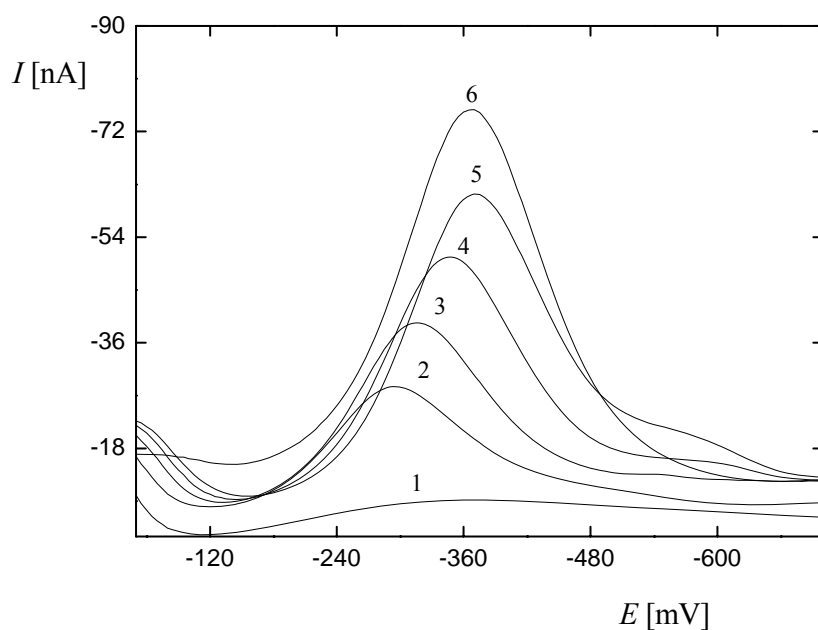
Obr. 4.4

Závislost výšky píku FM ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) na množství MeOH v roztoku. Měřeno pomocí DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2 : dest. voda s proměnným množstvím MeOH.

4.1.2 Přímé stanovení Fomesafenu ve vodných matricích

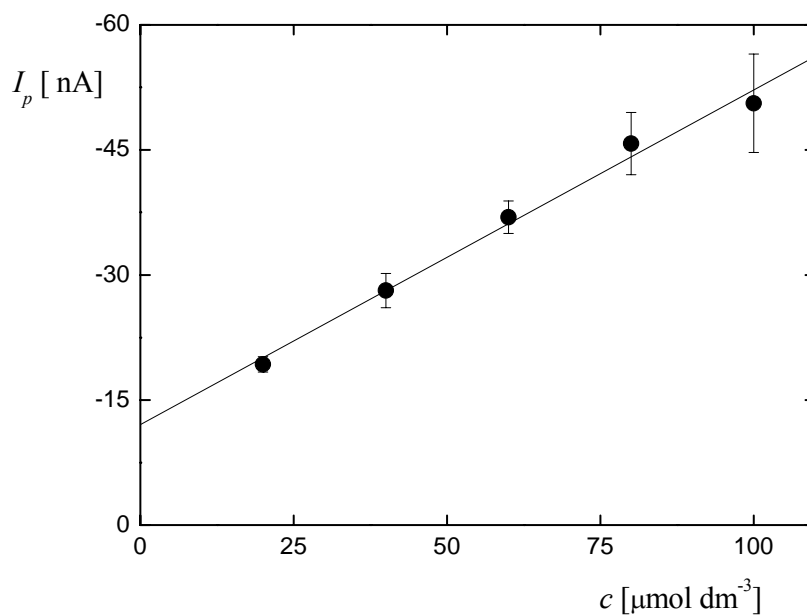
4.1.2.1 Přímé stanovení Fomesafenu v pitné vodě

Byly proměřeny kalibrační závislosti přímého stanovení Fomesafenu v matrici pitné vody v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (Obr. 4.6) a $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (Obr. 4.8). Příslušné voltamogramy jsou uvedeny na Obr. 4.5 a Obr. 4.7. Kalibrační závislosti v koncentračním řádu 10^{-5} a $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ jsou lineární, s uspokojivou opakovatelností. Výsledky získané v koncentračním řádu $10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ nebyly vzhledem k příliš nízké odezvě při stanovení FM analyticky využitelné. Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v Tab. 4.1.



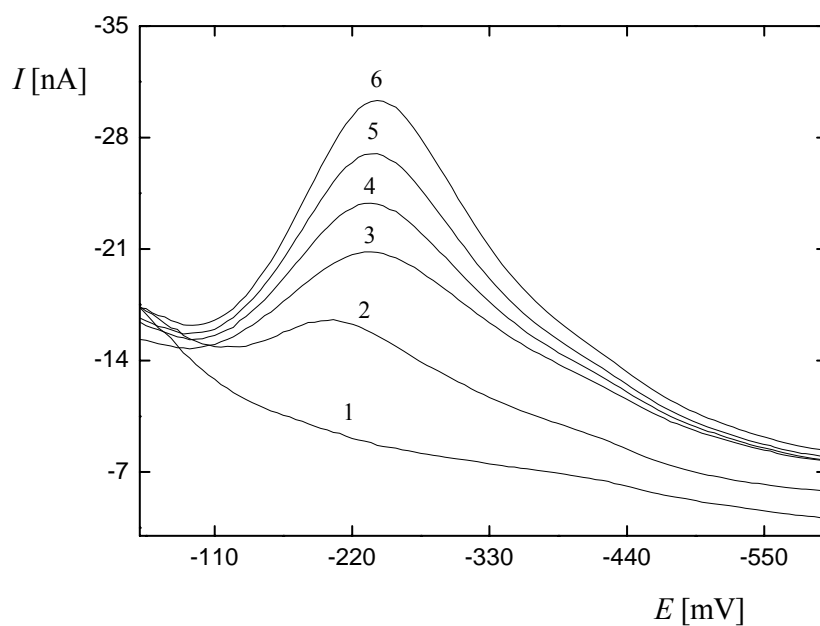
Obr. 4.5

DP voltamogramy přímého stanovení FM na m-AgSAE v matrici pitné vody. Prostředí měřeného roztoku fosfátový pufr (pH 2) : pitná voda : MeOH (1:6:3). Koncentrace FM v pitné vodě: 0 (1), $2 \cdot 10^{-5}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ (5) a $1 \cdot 10^{-4}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.



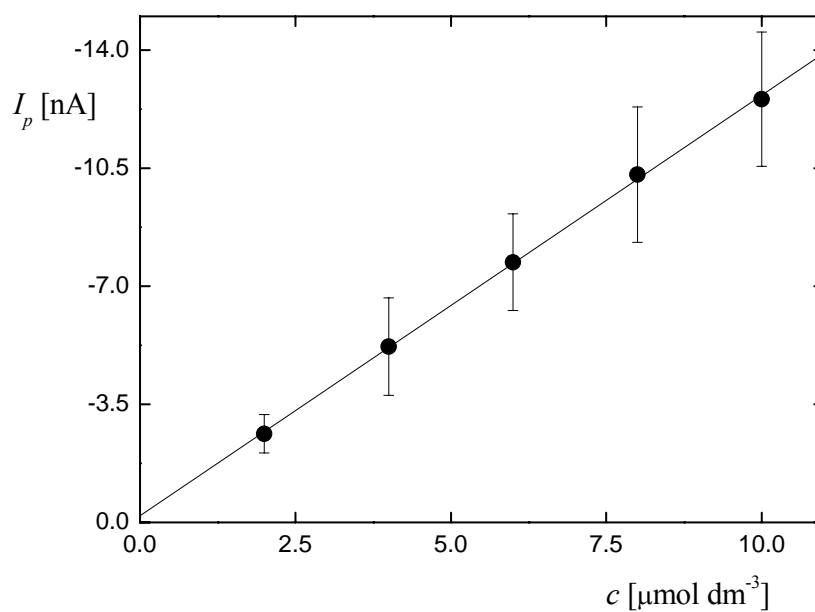
Obr. 4.6

Kalibrační závislost přímého stanovení FM v matrici pitné vody měřená technikou DPV na m-AgSAE. Prostředí měřeného roztoku fosfátový pufr (pH 2) : pitná voda : MeOH (1:6:3). Koncentrace FM v pitné vodě byla v rozsahu $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.



Obr. 4.7

DP voltamogramy přímého stanovení FM na m-AgSAE v matrici pitné vody. Prostředí měřeného roztoku fosfátový pufr (pH 2) : pitná voda (1:9). Koncentrace FM v pitné vodě: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5) a $1 \cdot 10^{-5}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.



Obr. 4.8

Kalibrační závislost přímého stanovení FM v matrici pitné vody pomocí DPV na m-AgSAE. Prostředí fosfátový měřeného roztoku pufr (pH 2) : pitná voda (1:9). Koncentrace FM v pitné vodě byla v rozsahu $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Tab. 4.1

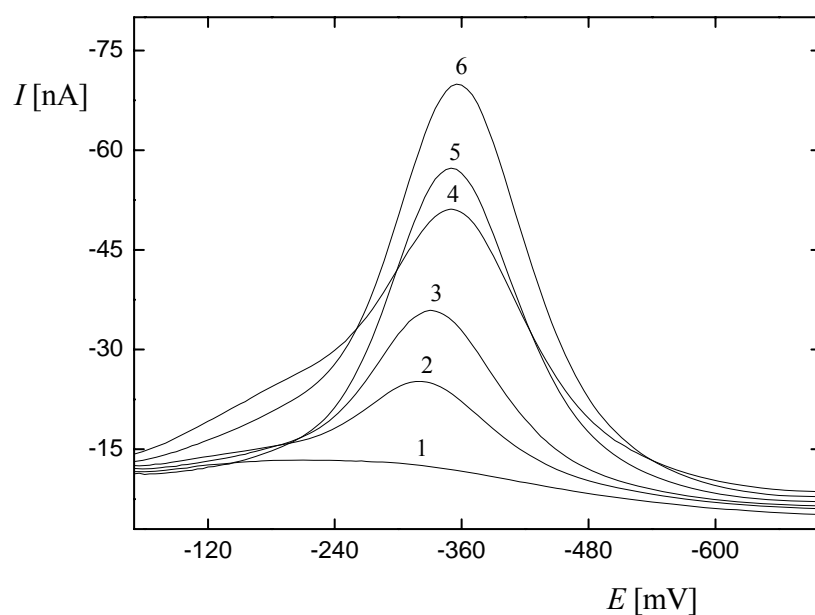
Parametry kalibračních závislostí přímého stanovení Fomesafenu v matrici pitné vody. Měřeno technikou DPV/m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2 : pitná voda (1:9) v případě kalibrační závislosti v koncentračním řádu $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ FM v pitné vodě, resp. v prostředí fosfátový pufru (pH 2) : pitná voda : MeOH (1:6:3) v případě kalibrační závislosti v koncentračním řádu $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ FM v pitné vodě.

Koncentrace [mol · dm ⁻³]	Úsek [nA]	Směrnice [nA · μmol ⁻¹ · dm ³]	Korelační koeficient	L _Q [mol · dm ⁻³]
(2-10) · 10 ⁻⁵	-12,05	-4,02 · 10 ^{-5 a}	0,9901	chybí
(2-10) · 10 ⁻⁶	-0,20	-1,25 · 10 ⁻⁶	0,9994	1 · 10 ⁻⁶

^a – nižší směrnice může být důsledkem většího poměrného zastoupení methanolu v roztoku, který sice zvyšuje rozpustnost FM, ale zároveň snižuje jeho signál (citlivost metody)

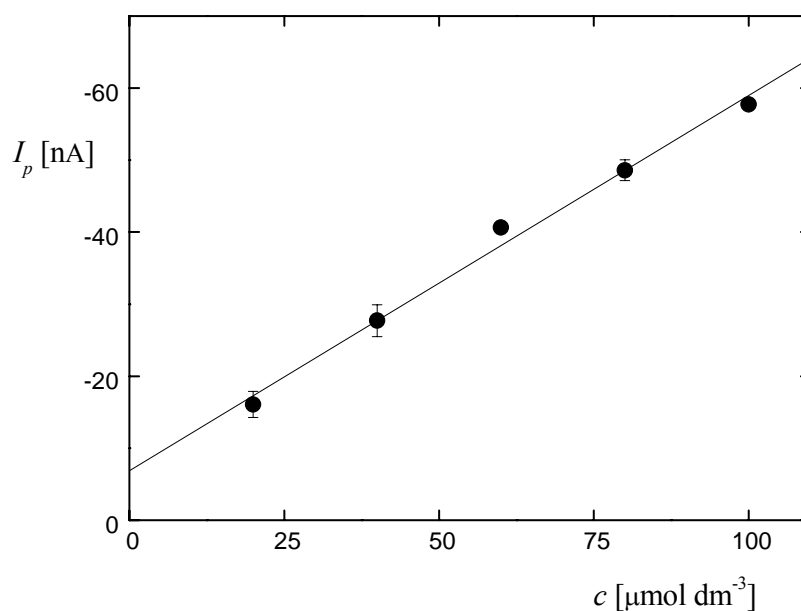
4.1.2.2 Přímé stanovení Fomesafenu v říční vodě

Byly proměřeny kalibrační závislosti přímého stanovení Fomesafenu v matrici říční vody v koncentračním rozmezí (2-10) · 10⁻⁵ mol · dm⁻³ (Obr. 4.10) a (2-10) · 10⁻⁶ mol · dm⁻³ (Obr. 4.12). Příslušné voltamogramy jsou pro ilustraci uvedeny na Obr. 4.9 a Obr. 4.11. Kalibrační závislosti v koncentračním řádu 10⁻⁵ a 10⁻⁶ mol · dm⁻³ jsou lineární s vyhovující opakovatelností. I v případě přímého stanovení FM v říční vodě byl učiněn pokus o proměření kalibrační závislosti v koncentračním řádu 10⁻⁷ mol · dm⁻³, nicméně ani v tomto případě nebyly výsledky analyticky využitelné. Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v Tab. 4.2.



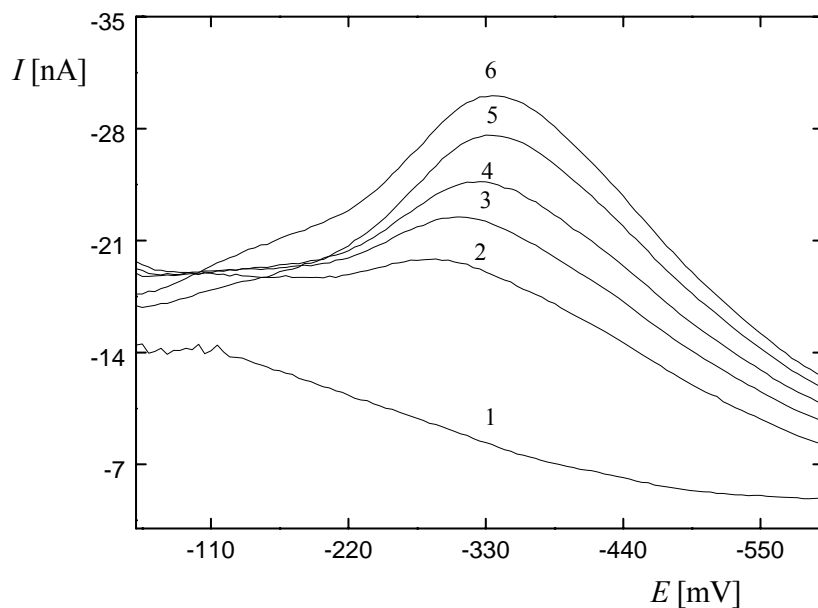
Obr. 4.9

DP voltamogramy přímého stanovení FM na m-AgSAE v matrici říční vody. Prostředí měřeného roztoku fosfátový pufr (pH 2) : říční voda : MeOH (1:6:3). Koncentrace FM v říční vodě: 0 (1), $2 \cdot 10^{-5}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ (5) a $1 \cdot 10^{-4}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.



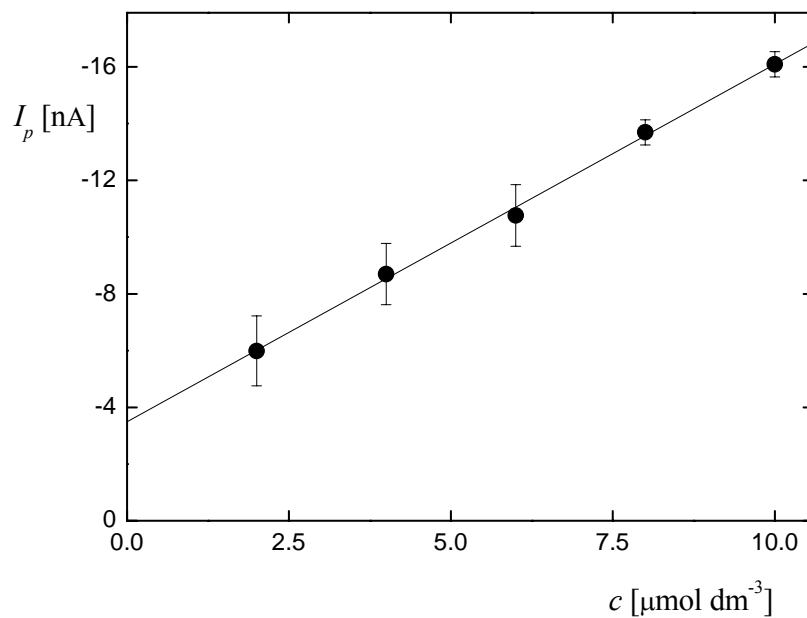
Obr. 4.10

Kalibrační závislost přímého stanovení FM v matrici říční vody pomocí DPV na m-AgSAE. Prostředí měřeného roztoku fosfátový pufr (pH 2) : říční voda : MeOH (1:6:3). Koncentrace FM v říční vodě byla v rozsahu $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.



Obr. 4.11

DP voltamogramy přímého stanovení FM na m-AgSAE v matrici říční vody. Prostředí měřeného roztoku fosfátový pufr (pH 2) : pitná voda (1:9). Koncentrace FM v říční vodě: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5) a $1 \cdot 10^{-5}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.



Obr. 4.12

Kalibrační závislost přímého stanovení FM na m-AgSAE v matrici říční vody. Prostředí měřeného roztoku fosfátový pufr (pH 2) : říční voda (1:9). Koncentrace FM v říční vodě byla v rozsahu $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Tab. 4.2

Parametry kalibračních závislostí přímého stanovení FM v matrici říční vody pomocí DPV na m-AgSAE. Měřeno technikou DPV/m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2 v případě kalibrační závislosti v koncentračním řádu $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ FM v říční vodě, resp. v prostředí fosfátový pufr (pH 2) : říční voda : MeOH (1:6:3) v případě kalibrační závislosti v koncentračním řádu $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ FM v říční vodě.

Koncentrace [mol · dm ⁻³]	Úsek [nA]	Směrnice [nA · μmol ⁻¹ · dm ³]	Korelační koeficient	L _Q [mol · dm ⁻³]
2 · 10 ⁻⁵	-6,88	-5,21 · 10 ⁻⁵ ^a	0,9915	chybí
2 · 10 ⁻⁶	-3,49	-1,26 · 10 ⁻⁶	0,9980	1 · 10 ⁻⁶

^a – nižší směrnice může být důsledkem většího poměrného zastoupení methanolu v roztoku, který sice zvyšuje rozpustnost FM, ale zároveň snižuje jeho signál (citlivost metody)

4.1.3 Extrakce Fomesafenu z vodných matric

Extrakce tuhou fází (SPE) je obvykle používána jako nástroj předběžné separace látek ze složitější matrice, či pro zakoncentrování analytu ze vzorku. Při použití destilované vody coby jednoduché modelové matrice, má extrakce čistě prekoncentrační úlohu. U pitné a říční vody má extrakce separační i prekoncentrační funkci.

Extrakce Fomesafenu z modelových vzorků byla prováděna z matric destilované (modelová extrakce), pitné a říční vody, vždy ve dvou prekoncentračních modech: i) se stupněm prekoncentrace 10 a ii) se stupněm prekoncentrace 100. U extrakcí se stupněm prekoncentrace 10 (i), resp. 100 (ii), byla extrakce vždy prováděna ze vzorku vodné matrice o objemu 100 ml a měřený roztok po extrakci byl vždy 10 ml (i), resp. 1 ml (ii). Výchozí objem vzorku vodné matrice byl tedy u všech extrakcí 100 ml.

Samotná extrakce, příprava vzorků (ať modelových či slepých) před extrakcí stejně jako příprava roztoků k měření vyextrahovaných vzorků byly provedeny dle postupů uvedených v kapitole 3.3 – Pracovní postupy. K extrakci byly použity kolonky typového označení SPE kolonky Lichrolut RP-18E 200 mg, 3 ml. Bližší technické informace o kolonkách je možné najít v kapitole 3.2 – Aparatura.

Při testování využití extrakce jako metody pro účely analytické chemie bylo postupováno následovně:

U extrakcí byla vždy nejprve změřena účinnost extrakce pomocí procentového výtěžku extrakce. **Procentový výtěžek extrakce** byl určen z poměru I_p/I_p^0 kde I_p je výška píku získaná stanovením Fomesafenu v roztoku vzniklém extrakcí modelového vzorku (m) o určité koncentraci Fomesafenu, odpovídající látkovému množství (x), v příslušné matrici. I_p^0 je výška píku Fomesafenu získaná měřením srovnávacího roztoku, který vznikl extrakcí slepého vzorku příslušné vodné matrice s následným standardním přidavkem stejného látkového množství Fomesafenu (x), které bylo použito pro přípravu srovnávaného modelového vzorku (m). Popis přípravy slepého vzorku a srovnávacího roztoku je v kapitole 3.3 – Pracovní postupy.

Po určení účinnosti extrakce bylo postoupeno k extrakci kalibrační sady modelových vzorků. Z extrahovaných vzorků byla připravena sada roztoků k měření, ve kterých byl stanoven Fomesafen a získány kalibrační závislosti. U jednotlivých typů extrakce (kombinace prekoncentračních modů a vodných matric) byla ze získané kalibrační závislosti pro nejnižší koncentrační řád určena mez stanovitelnosti.

U všech extrakcí byly extrahovány a následně proměřovány modelové vzorky v rozsahu koncentračních řádů 10^{-7} mol · dm⁻³ a 10^{-8} mol · dm⁻³, přičemž ve vyšším koncentračním řádu 10^{-7} mol · dm⁻³ se zdařily všechny typy extrakcí, u nižšího koncentračního řádu 10^{-8} mol · dm⁻³ se zdařila pouze extrakce z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10, ostatní typy extrakcí neposkytovaly uspokojivé výsledky, které by umožnily snížit mez stanovitelnosti FM.

4.1.3.1 Extrakce Fomesafenu z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10

SP extrakce z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10 byla prováděna ze 100 ml destilované vody do 10 ml měřeného roztoku. Jednotlivé kroky extrakce a obecný postup je podrobně popsán v úvodní kapitole k extrakcím (kapitola 4.1.3 – Extrakce Fomesafenu z vodných matric) a v kapitole 3.3 – Pracovní postupy.

Nejprve byla měřena výtěžnost extrakčního postupu. Parametry extrakce včetně jejího procentuálního výtěžku (účinnosti) jsou shrnuty v Tab. 4.3. Voltamogramy znázorňující účinnost extrakce (resp. prekoncentrace) jsou zobrazeny na Obr. 4.13.

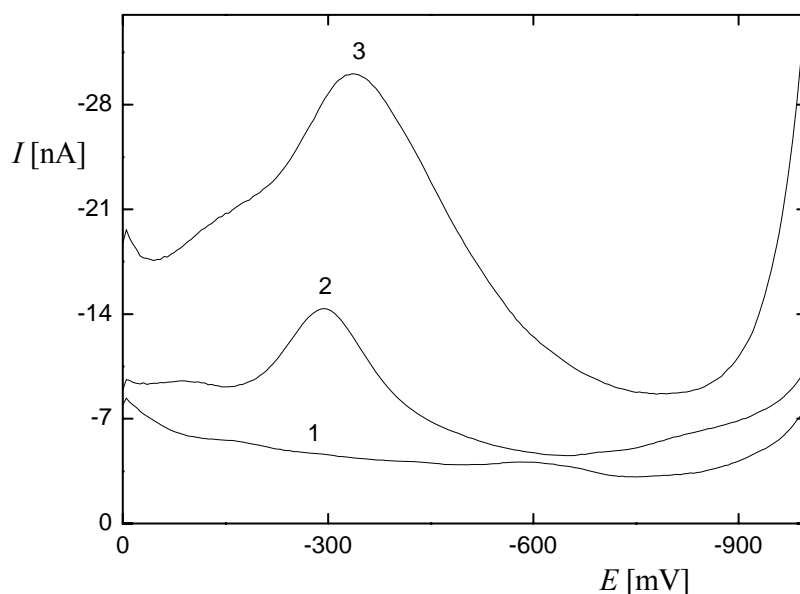
Následně byly proměřeny kalibrační závislosti sady roztoků vzniklých extrakcí (resp. prekoncentrací) sady modelových vzorků v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-7}$ mol · dm⁻³ (Obr. 4.15) a $(2 - 10) \cdot 10^{-8}$ mol · dm⁻³ (Obr. 4.17). Ukázky voltamogramů jsou zobrazeny na Obr. 4.14 a Obr. 4.16. Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny

v Tab. 4.4. Kalibrační závislosti po prekoncentraci z modelových vzorků destilované vody s prekoncentračním stupněm 10 jsou lineární a uspokojivě opakovatelné.

Tab. 4.3

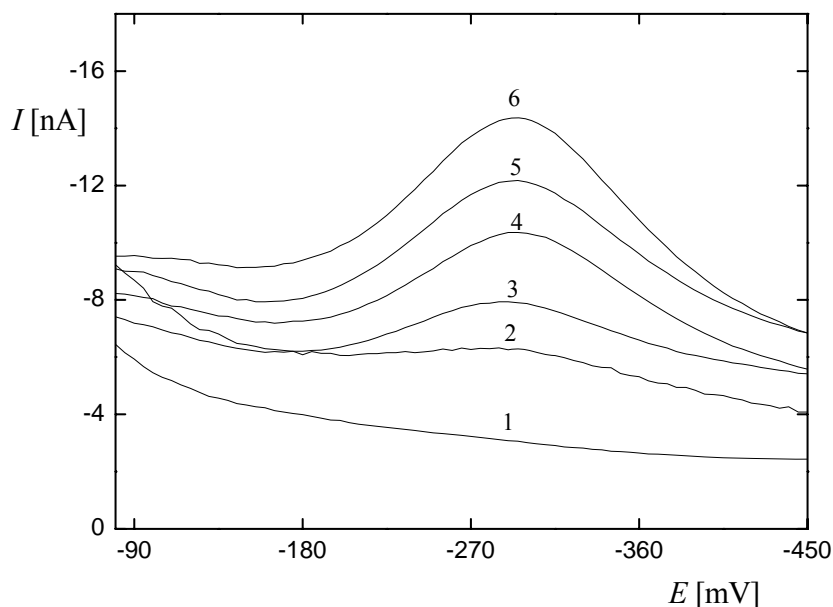
Parametry extrakce Fomesafenu z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest. voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/měřený objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	-I _p ⁰ [nA]	-I _p [nA]	Výtěžek [%]
100/10	1·10 ⁻⁶	-16,1	-6,68	41



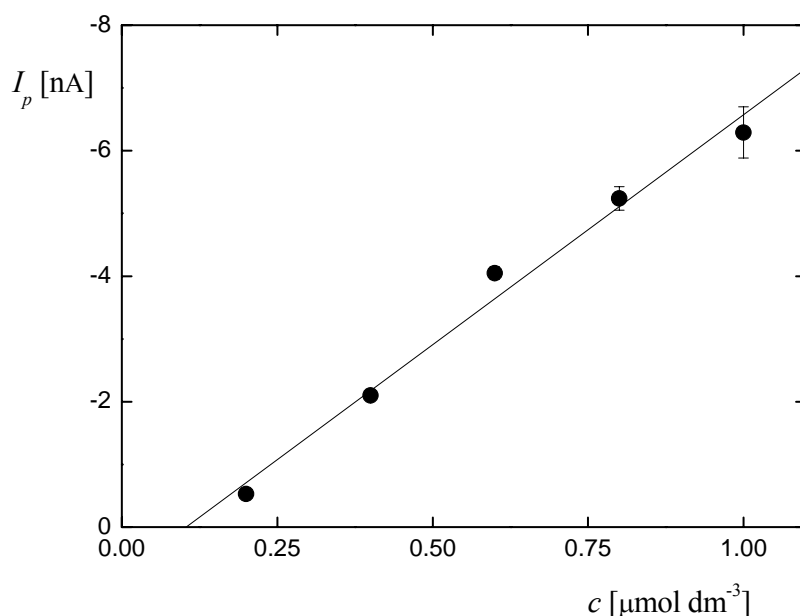
Obr. 4.13

DP voltamogramy stanovení FM po extrakci z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10. 1 – slepý vzorek; 2 – modelový vzorek o koncentraci FM 1·10⁻⁶ mol · dm⁻³ (I_p); 3 – slepý vzorek s následným standardním přidavkem FM po extrakci, koncentrace FM 2·10⁻⁶ mol · dm⁻³ (srovnávací roztok; I_p⁰). Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosátový pufr pH 2 – MeOH (9:1). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).



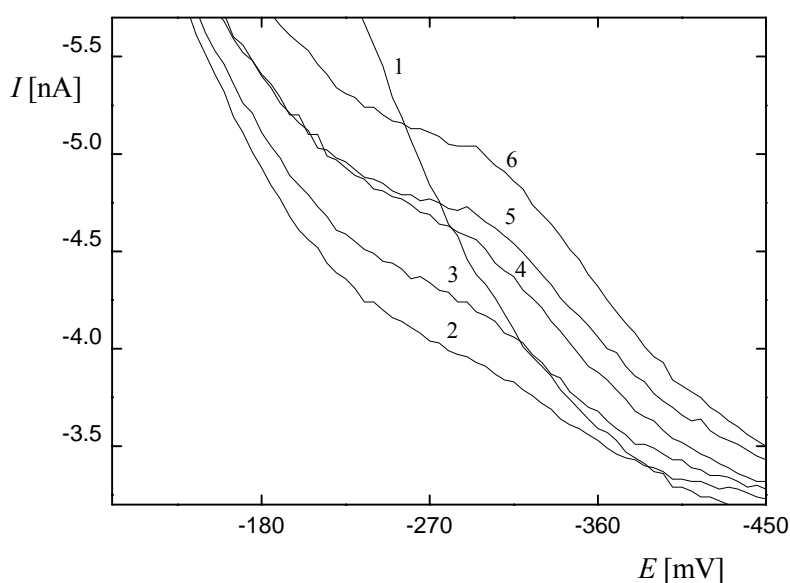
Obr. 4.14

DP voltamogramy stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10 v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Koncentrace FM v roztoku před extrakcí: 0 (1), $2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (3), $6 \cdot 10^{-7}$ (4), $8 \cdot 10^{-7}$ (5) a $1 \cdot 10^{-6}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (modelové vzorky). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).



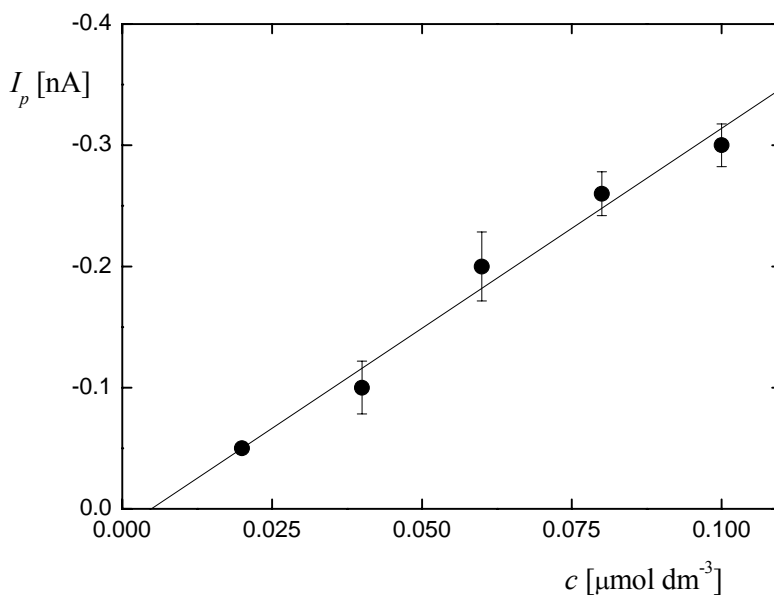
Obr. 4.15

Kalibrační závislost stanovení FM pomocí DPV na m-AgSAE po extrakci z dest. vody se stupněm prekoncentrace 10 v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Koncentrační rozsah modelových vzorků před extrakcí $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.16

DP voltamogramy stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10 v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Koncentrace FM v roztoku před extrakcí: 0 (1), $2 \cdot 10^{-8}$ (2), $4 \cdot 10^{-8}$ (3), $6 \cdot 10^{-8}$ (4), $8 \cdot 10^{-8}$ (5) a $1 \cdot 10^{-7}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (modelové vzorky). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.17

Kalibrační závislost stanovení FM pomocí DPV na m-AgSAE po extrakci z destilované vody s prekoncentračním stupněm 10 v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Koncentrační rozsah modelových vzorků před extrakcí $(2-10) \cdot 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).

Tab. 4.4

Parametry kalibračních závislostí stanovení Fomesafenu po extrakci z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/ měřený Objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	Úsek [nA]	Směrnice [nA · μmol ⁻¹ · dm ³]	Korelační koeficient	L _Q [mol · dm ⁻³]
100/10	$(2-10) \cdot 10^{-7}$	0,76	$-7,33 \cdot 10^6$	0,98611	
100/10	$(2-10) \cdot 10^{-8}$	0,02	$-3,30 \cdot 10^6$	0,97932	$7 \cdot 10^{-8}$

4.1.3.2 Extrakce Fomesafenu z destilované vody se stupněm prekoncentrace 100

Při extrakci Fomesafenu z destilované vody se stupněm prekoncentrace 100 byla extrakce prováděna ze 100 ml destilované vody do 1 ml měřeného roztoku. Jednotlivé kroky extrakce a obecný postup v rámci jednotlivých kroků je popsán v úvodní kapitole k extrakcím (kapitola 4.1.3 – Extrakce Fomesafenu z vodných matric) a v kapitole 3.3 – Pracovní postupy.

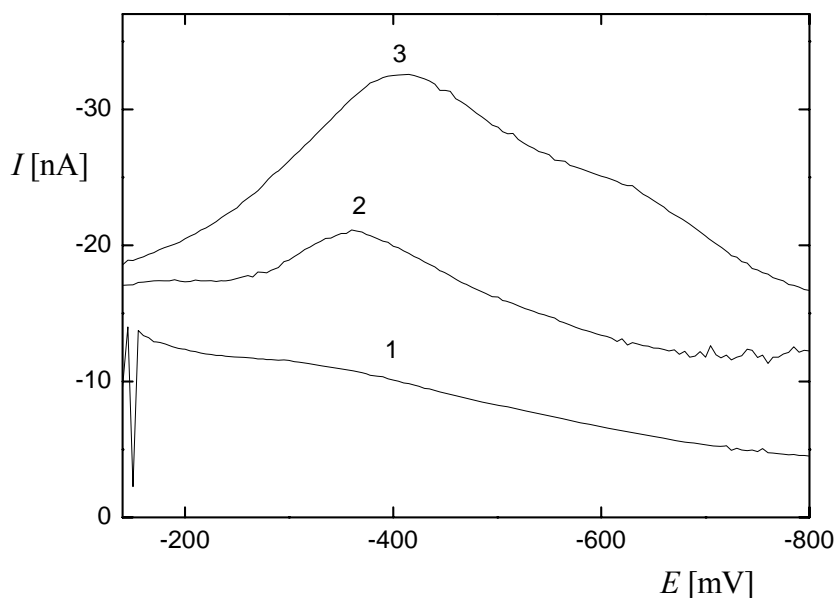
Nejprve byla měřena výtěžnost extrakčního postupu. Parametry extrakce (resp. prekoncentrace) včetně její účinnosti jsou shrnuty v Tab. 4.5. Záznam DP voltamogramů ilustrující účinnost extrakce je uveden na Obr. 4.18.

Byla provedena extrakce sady modelových vzorků FM v destilované vodě v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-7}$ mol · dm⁻³. Proměřením sady roztoků vzniklých extrakcí modelových vzorků byla získána kalibrační závislost (Obr. 4.20). Záznam naměřených voltamogramů je uveden na Obr. 4.19. Parametry kalibrační závislosti jsou přehledně shrnuty v Tab. 4.6, obdržená kalibrační závislost je uspokojivě lineární.

Tab. 4.5

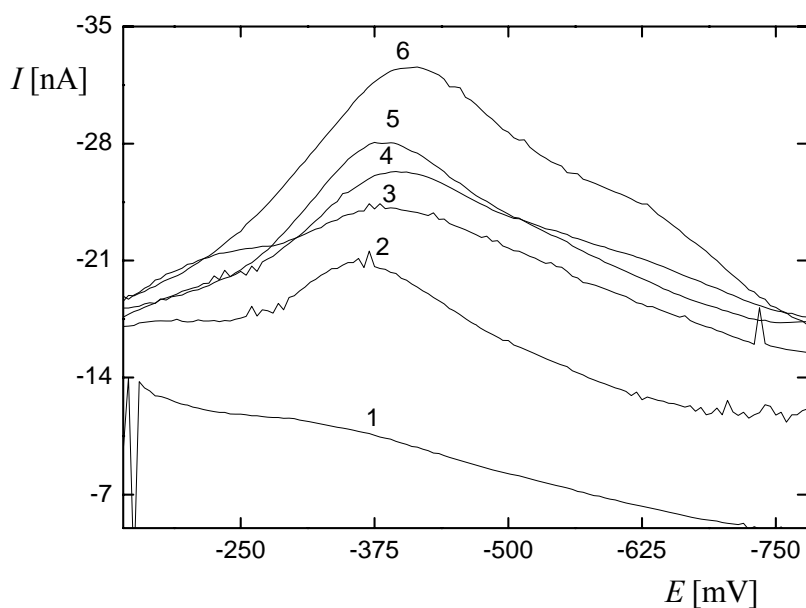
Parametry extrakce Fomesafenu z destilované vody se stupněm prekoncentrace 100. Roztoky získané extrakcí byly měřeny technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2. Složení roztoku před extrakcí bylo - BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/měřený objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	-I _p ⁰ [nA]	-I _p [nA]	výtěžek [%]
100/1	2·10 ⁻⁷	14,55	-5,73	39



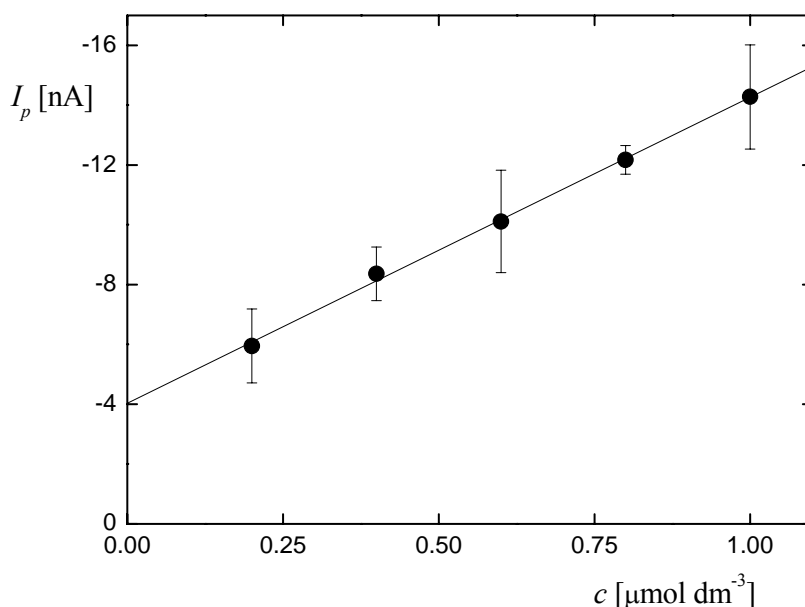
Obr. 4.18

DP voltamogramy vzorků FM po extrakci z destilované vody se stupněm prekoncentrace 100. 1 – slepý vzorek; 2 – modelový vzorek o koncentraci FM 2·10⁻⁷ mol · dm⁻³ (I_p); 3 – slepý vzorek s následným standardním přídatkem FM po extrakci, koncentrace FM 2·10⁻⁶ mol · dm⁻³ (srovnávací roztok; I_p⁰). Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosátový pufr pH 2. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.19

DP voltamogramy stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z destilované vody se stupněm prekoncentrace 100 v prostředí fosfátového pufru pH 2 – složení měřeného roztoku. Koncentrace FM v roztoku před extrakcí: 0 (1), $2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (3), $6 \cdot 10^{-7}$ (4), $8 \cdot 10^{-7}$ (5) a $1 \cdot 10^{-6}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (modelové vzorky). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.20

Kalibrační závislost stanovení FM pomocí DPV na m-AgSAE po extrakci z destilované vody se stupněm prekoncentrace 100 v prostředí fosfátového pufru pH 2. Koncentrační rozsah modelových vzorků FM v dest. vodě před extrakcí $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).

Tab. 4.6

Parametry kalibrační závislosti stanovení Fomesafenu po extrakci z destilované vody se stupněm prekoncentrace 100. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/ měřený Objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	Úsek [nA]	Směrnice [nA · μmol ⁻¹ · dm ³]	Korelační koeficient	L _Q [mol · dm ⁻³]
100/1	(2-10) · 10 ⁻⁷	4,03	-1,02 · 10 ⁷	0,99814	1 · 10 ⁻⁷

4.1.3.3 Extrakce Fomesafenu z pitné vody se stupněm prekoncentrace 10

Při extrakci Fomesafenu z pitné vody se stupněm prekoncentrace 10 bylo extrahováno ze 100 ml pitné vody do 10 ml měřeného roztoku. Jednotlivé kroky a obecný pracovní postup, dle kterého byla extrakce provedena, jsou popsány v úvodní kapitole vztahující se k extrakcím (kapitola 4.1.3 – Extrakce Fomesafenu z vodných matic) a v kapitole 3.3 – Pracovní postupy.

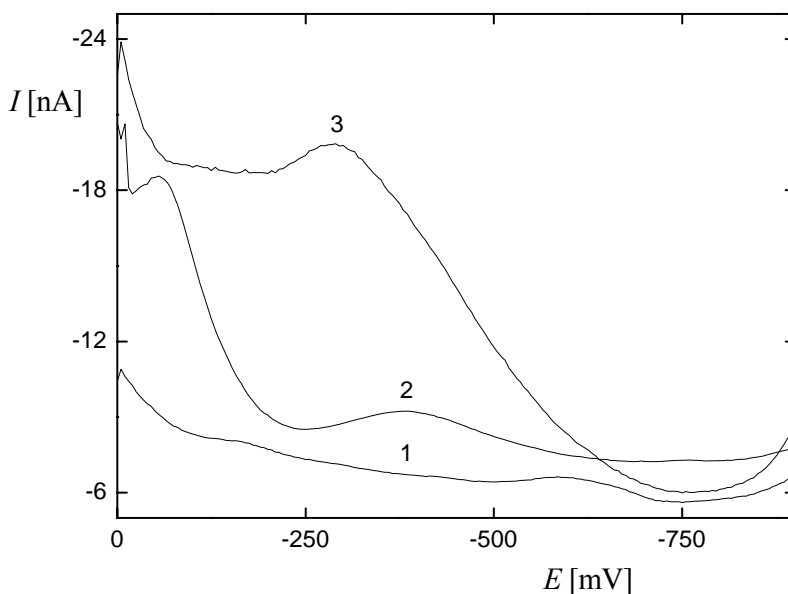
Nejprve byla měřena výtěžnost extrakčního postupu. Parametry extrakce včetně její účinnosti jsou shrnuty v Tab. 4.7. Ukázky voltamogramů znázorňující účinnosti extrakce (resp. prekoncentrace) jsou zobrazeny na Obr. 4.21.

Extrakcí sady modelových vzorků FM v matici pitné vody v koncentračním rozsahu (2-10) · 10⁻⁷ mol · dm⁻³ byla získána kalibrační závislost (Obr. 4.23). Záznam příslušných voltamogramů je zobrazen na Obr. 4.22. Parametry kalibrační závislosti jsou přehledně shrnuty v Tab. 4.8. Kalibrační závislost získaná extrakcí z vodné matrice s prekoncentračním stupněm 10 je lineární a uspokojivě opakovatelná.

Tab. 4.7

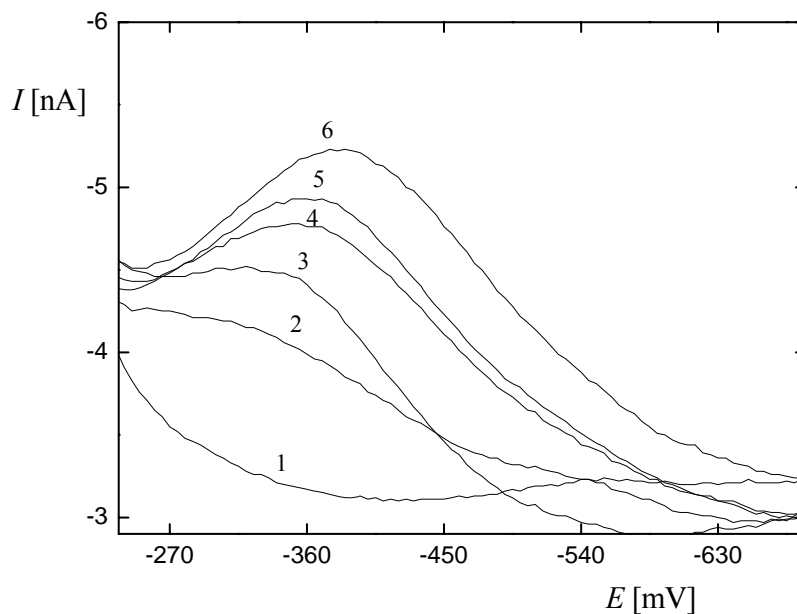
Parametry kalibrační závislosti Fomesafenu po extrakci z pitné vody s prekoncentračním stupněm 10. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/ měřený objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	-I _p ⁰ [nA]	-I _p [nA]	Výtěžek [%]
100/10	1·10 ⁻⁶	-5,28	-1,22	23



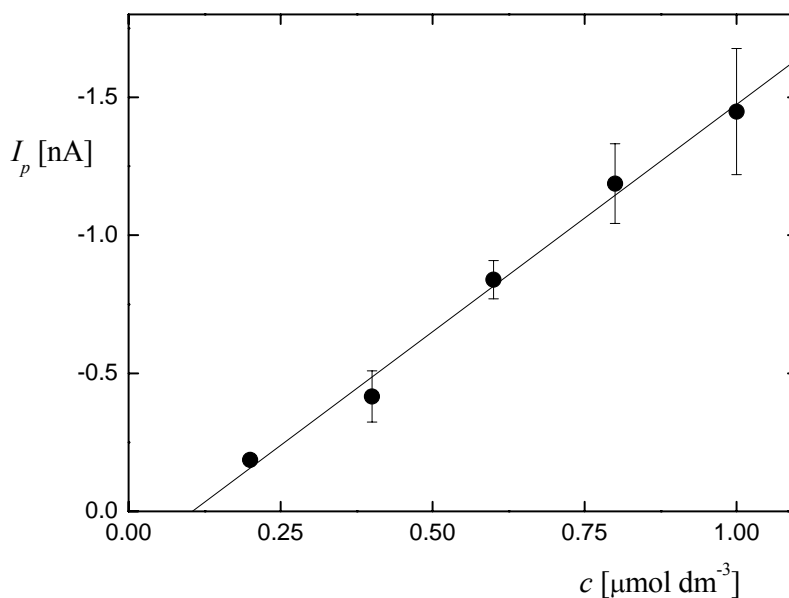
Obr. 4.21

DP voltamogramy stanovení FM po extrakci z pitné vody se stupněm prekoncentrace 10. 1 – slepý vzorek; 2 – modelový vzorek o koncentraci FM 1·10⁻⁶ mol · dm⁻³ (I_p); 3 – slepý vzorek s následným standardním přidavkem FM po extrakci, koncentrace FM 2·10⁻⁶ mol · dm⁻³ (srovnávací roztok; I_p⁰). Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2 : MeOH (9:1). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : pitná voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.22

DP voltamogramy stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z pitné vody se stupněm prekoncentrace 10 v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Koncentrace FM v matrici pitné vody před extrakcí: 0 (1), $2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (3), $6 \cdot 10^{-7}$ (4), $8 \cdot 10^{-7}$ (5) a $1 \cdot 10^{-6}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (modelové vzorky). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : pitná voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.23

Kalibrační závislost stanovení FM pomocí DPV na m-AgSAE po extrakci z pitné vody se stupněm prekoncentrace 10 v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Koncentrační rozsah modelových vzorků FM v pitné vodě $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : pitná voda : MeOH (1:98:1).

Tab. 4.8

Parametry kalibrační závislosti stanovení Fomesafenu po extrakci z pitné vody s prekoncentračním stupněm 10. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2 : pitná voda (9:1). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : pitná voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/ měřený Objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	Úsek [nA]	Směrnice [nA · μmol ⁻¹ · dm ³]	Korelační koeficient	L _Q [mol · dm ⁻³]
100/10	(2-10) · 10 ⁻⁷	0,17	-1,7 · 10 ⁶	0,9919	2 · 10 ⁻⁷

4.1.3.4 Extrakce Fomesafenu z pitné vody se stupněm prekoncentrace 100

SP extrakce Fomesafenu z pitné vody se stupněm prekoncentrace 100 byla provedena ze 100 ml pitné vody do 1 ml měřeného roztoku. Obecný postup a jednotlivé kroky, dle kterých byla extrakce provedena, jsou uvedeny v úvodní kapitole k extrakcím 4.1.3 – Extrakce Fomesafenu z vodných matric a v kapitole 3.3 – Pracovní postupy.

Parametry extrakce včetně Procentuální stanovení výtěžku extrakce jsou uvedeny v Tab 4.9. Záznam voltamogramů ilustrující účinnost extrakce je zobrazen na Obr. 4.24.

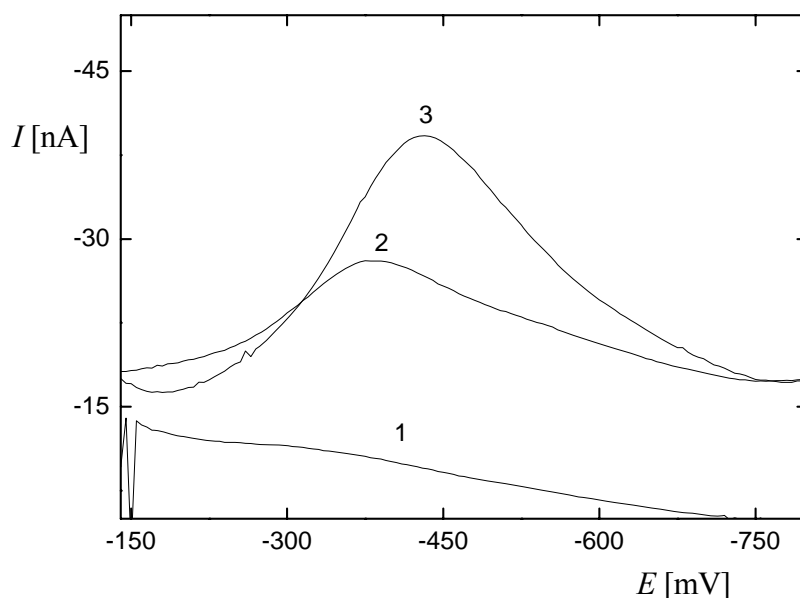
Kalibrační závislost byla získána extrakcí sady modelových vzorků FM pitné vodě v koncentračním rozmezí (2-10) · 10⁻⁷ mol · dm⁻³. Kalibrační závislost je zobrazena na Obr. 4.26. Záznam voltamogramů kalibrační závislosti je pro ilustraci uveden na Obr. 4.25. Parametry získané kalibrační závislosti jsou uvedeny v Tab. 4.10. Kalibrační závislost vzniklá extrakcí z pitné vody s prekoncentračním stupněm 100 je uspokojivě lineární.

Tab. 4.9

Parametry SP extrakce Fomesafenu z pitné vody s prekoncentračním stupněm 100.

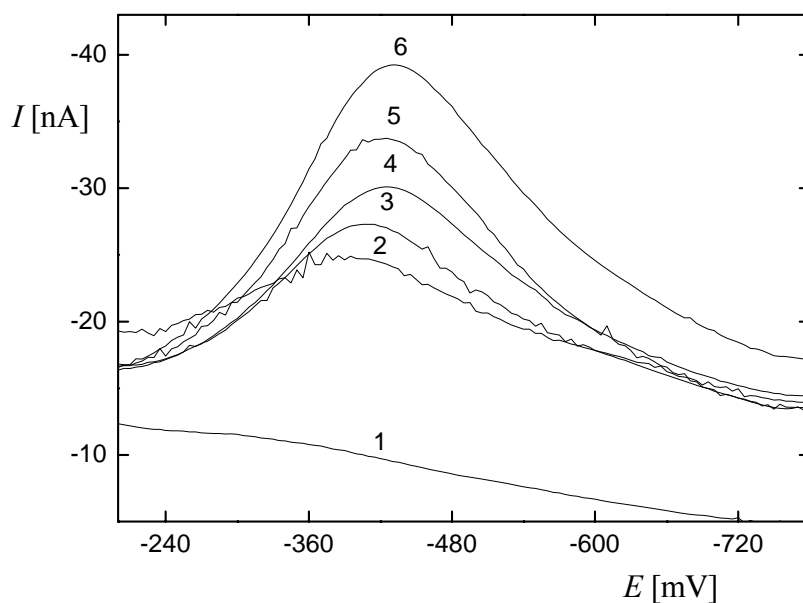
Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2 – složení měřeného roztoku. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/měřený objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	-I _p ⁰ [nA]	-I _p [nA]	výtěžek [%]
100/1	2·10 ⁻⁷	-22,87	-10,36	45



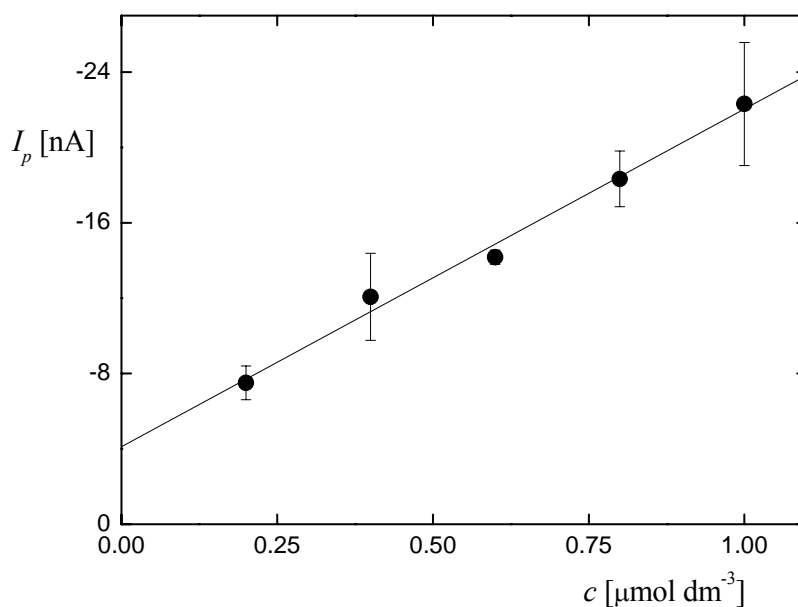
Obr. 4.24

DP voltamogramy FM po extrakci z pitné vody s prekoncentračním stupněm 100. 1 – slepý vzorek; 2 – modelový vzorek o koncentraci FM 2·10⁻⁷ mol · dm⁻³ (I_p); 3 – slepý vzorek s následným standardním přídatkem FM po extrakci, koncentrace FM 2·10⁻⁶ mol · dm⁻³ (srovnávací roztok; I_p⁰). Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : dest.voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.25

DP voltamogramy stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z pitné vody se stupněm prekoncentrace 100 v prostředí fosfátového pufru pH 2 – složení měřeného roztoku. Koncentrace FM v matrici pitné vody před extrakcí: 0 (1), $2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (3), $6 \cdot 10^{-7}$ (4), $8 \cdot 10^{-7}$ (5) a $1 \cdot 10^{-6}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (modelové vzorky). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : pitná voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.26

Kalibrační závislost stanovení FM pomocí DPV na m-AgSAE po extrakci z pitné vody se stupněm prekoncentrace 100 v prostředí fosfátového pufru pH 2 – složení měřeného roztoku. Koncentrační rozsah modelových vzorků FM v pitné vodě $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : pitná voda : MeOH (1:98:1).

Tab. 4.10

Parametry kalibrační závislosti stanovení Fomesafenu po extrakci z pitné vody s prekoncentračním stupněm 100. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : pitná voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/ měřený objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	Úsek [nA]	Směrnice [nA · μmol ⁻¹ · dm ³]	Korelační koeficient	L _Q [mol · dm ⁻³]
100/1	(2-10) · 10 ⁻⁷	4,12	-1,79 · 10 ⁷	0,99062	1 · 10 ⁻⁷

4.1.3.5 Extrakce Fomesafenu z říční vody se stupněm prekoncentrace 10

Extrakce Fomesafenu tuhou fází z říční vody se stupněm prekoncentrace 10 byla provedena ze 100 ml říční vody do 10 ml měřeného roztoku. Extrakce byla provedena dle obecného postupu uvedeného v úvodní kapitole (kap. 4.1.3 – Extrakce Fomesafenu z vodných matric) a v kapitole 3.3 – Pracovní postupy.

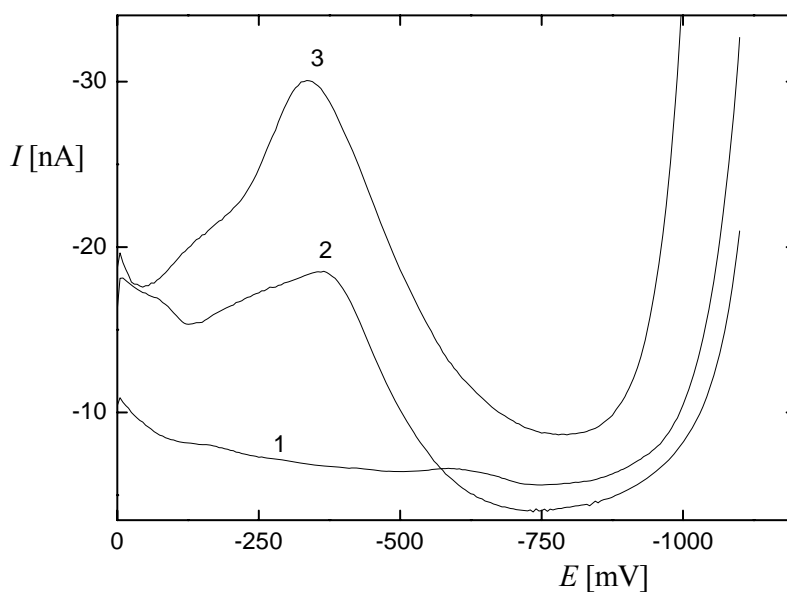
Parametry extrakce včetně určené účinnosti extrakce jsou uvedeny v Tab. 4.11. Záznam voltametrických křivek znázorňujících účinnost extrakce je uveden na Obr. 4.27.

Kalibrační závislost byla získaná extrakcí sady modelových vzorků FM v říční vodě v koncentračním rozsahu (2-10) · 10⁻⁷ mol · dm⁻³ a je zobrazena na Obr. 4.29. Záznam příslušných voltamogramů je pro ilustraci znázorněn na Obr. 4.28. Parametry kalibrační závislosti jsou uvedeny v Tab. 4.12. Získaná kalibrační závislost FM z říční vody s prekoncentračním stupněm 10 je lineární, uspokojivě opakovatelná.

Tab. 4.11

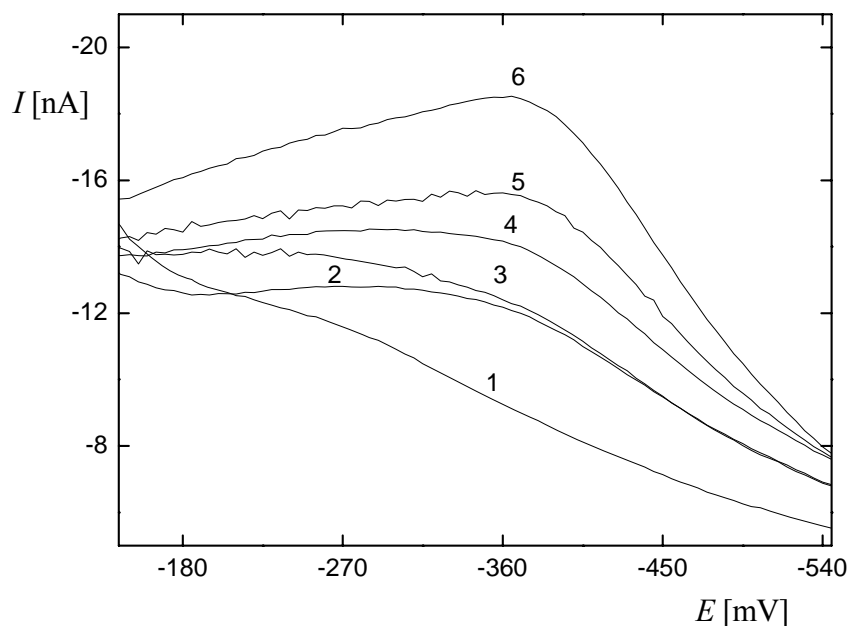
Parametry SP extrakce Fomesafenu z říční vody se stupněm prekoncentrace 10. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/měřený objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	-I _p ⁰ [nA]	-I _p [nA]	výtěžek [%]
100/10	2·10 ⁻⁶	-15,8	-8,48	53,6



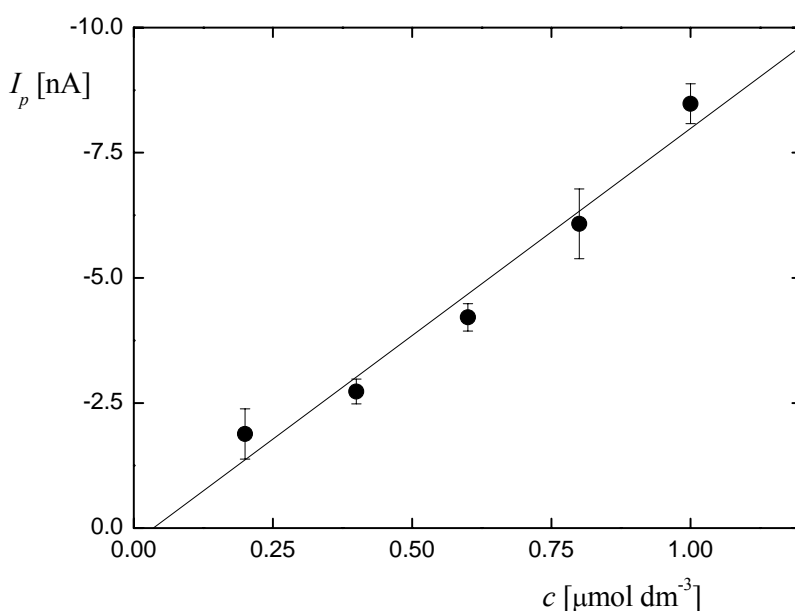
Obr. 4.27

DP voltamogramy FM po extrakci z říční vody se stupněm prekoncentrace 10. 1 – slepý vzorek; 2 – modelový vzorek o koncentraci FM 2·10⁻⁶ mol · dm⁻³ (I_p); 3 – slepý vzorek s následným standardním přídatkem FM po extrakci, koncentrace FM 2·10⁻⁶ mol · dm⁻³ (srovnávací roztok; I_p⁰). Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2 : MeOH (9:1). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.28

DP voltamogramy stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z říční vody se stupněm prekoncentrace 10 v prostředí fosfátový pufr pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Koncentrace FM v matrici říční vody před extrakcí: 0 (1), $2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (3), $6 \cdot 10^{-7}$ (4), $8 \cdot 10^{-7}$ (5) a $1 \cdot 10^{-6}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (modelové vzorky). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.29

Kalibrační závislost stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z říční vody se stupněm prekoncentrace 10 v prostředí fosfátový pufr pH 2 : MeOH (9:1) – složení měřeného roztoku. Koncentrační rozsah modelových vzorků FM v říční vodě $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:98:1).

Tab. 4.12

Parametry kalibrační závislosti stanovení Fomesafenu po extrakci z říční vody se stupněm prekoncentrace 10. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátový pufr pH 2 : MeOH (9:1). Složení roztoku před extrakcí – BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/ měřený Objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	Úsek [nA]	Směrnice [nA · mol ⁻¹ · dm]	Korelační koeficient	L _Q [mol · dm ⁻³]
100/10	(2-10) · 10 ⁻⁷	0,29	-8,28 · 10 ⁶	0,96911	1 · 10 ⁻⁷

4.1.3.6 Extrakce Fomesafenu z říční vody se stupněm prekoncentrace 100

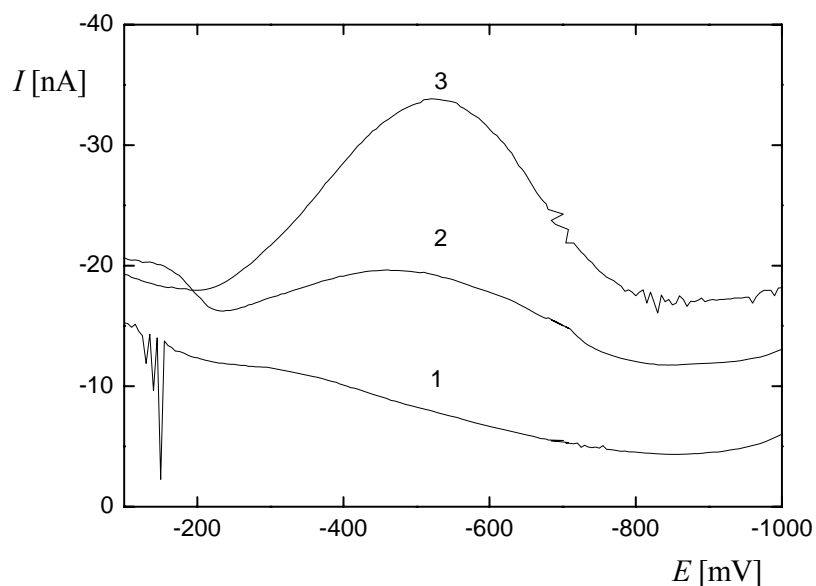
Extrakce Fomesafenu tuhou fází z říční vody se stupněm prekoncentrace 100 byla prováděna ze 100 ml říční vody do 1 ml měřeného roztoku. Jednotlivé kroky prováděné při extrakci jsou jako obecné schéma postupu popsány v úvodní kapitole 4.1.3 – Extrakce Fomesafenu z vodných matric. Samotný postup v rámci jednotlivých kroků je popsán v kapitole 3.3 – Pracovní postupy.

Parametry extrakce z říční vody se stupněm prekoncentrace 100 včetně účinnosti extrakce jsou shrnuty v Tab. 4.13. Záznamy DP voltamogramů odpovídající výtěžku extrakce jsou znázorněny na Obr. 4.30. Kalibrační závislost získaná proměřením vyextrahovaných modelových vzorků FM v říční vodě je zobrazena na Obr. 4.32. Příslušné voltamogramy ke kalibrační závislosti jsou pro ilustraci zobrazeny na Obr. 4.31. Parametry kalibrační závislosti jsou uvedeny v Tab. 4.14. Kalibrační závislost získaná extrakcí modelových vzorků v říční vodě s prekoncentračním stupněm 100 byla uspokojivě lineární.

Tab. 4.13

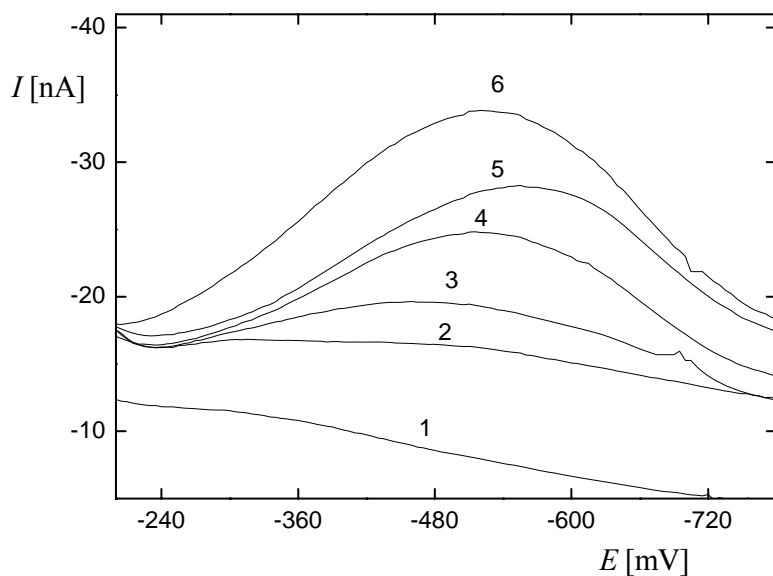
Parametry SP extrakce Fomesafenu z říční vody s prekoncentračním stupněm 100. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2. Složení roztoku před extrakcí (vzorek) – BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:98:1).

Extrahovaný/ měřený objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	-I _p ⁰ [nA]	-I _p [nA]	výtěžek [%]
100/1	2 · 10 ⁻⁷	16,27	5,15	32



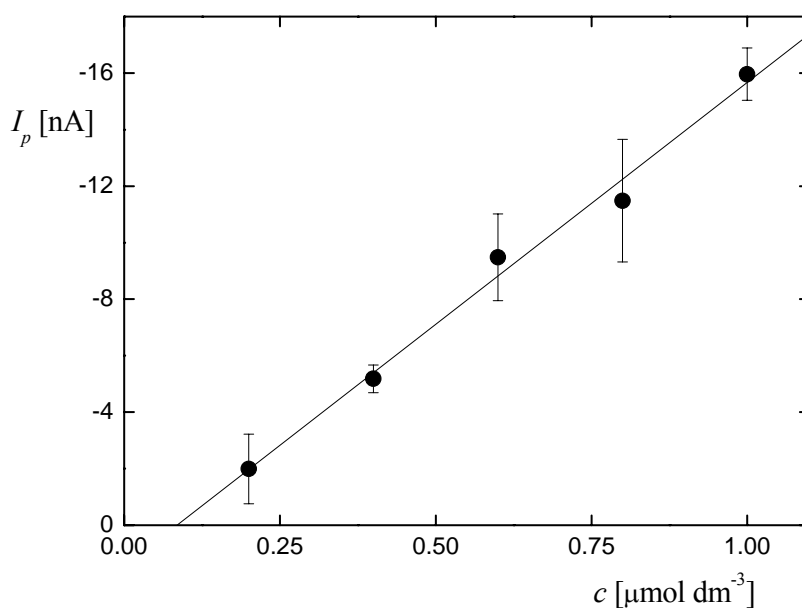
Obr. 4.30

DP voltamogramy stanovení FM po extrakci z říční vody se stupněm prekoncentrace 100. 1 – roztok získaný extrakcí slepého vzorku; 2 – roztok získaný extrakcí modelového vzorku obsahujícího $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ FM, 3 – roztok získaný extrakcí slepého vzorku se standardním přídatkem FM, koncentrace FM $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (srovnávací roztok). Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosátového pufru pH 2. Složení roztoku před extrakcí (vzorek) – BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:98:1).



Obr. 4.31

DP voltamogramy stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z říční vody se stupněm prekoncentrace 100 v prostředí fosátového pufru pH 2 – složení měřeného roztoku. Koncentrace FM v matrici říční vody před extrakcí: 0 (1), $2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (3), $6 \cdot 10^{-7}$ (4), $8 \cdot 10^{-7}$ (5) a $1 \cdot 10^{-6}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (modelové vzorky). Složení roztoku před extrakcí (vzorek) – BR pufr pH 2 : MeOH : říční voda (1:1:98).



Obr. 4.32

Kalibrační závislost stanovení FM na m-AgSAE po extrakci z říční vody se stupněm prekoncentrace 100 v prostředí fosfátového pufru pH 2 – složení měřeného roztoku. Koncentrační rozsah modelových vzorků FM v říční vodě před extrakcí $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Složení roztoku před extrakcí (vzorek) - BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:98:1).

Tab. 4.14

Parametry kalibrační závislosti stanovení Fomesafenu po extrakci z říční vody se stupněm prekoncentrace 100. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí fosfátového pufru pH 2. Složení roztoku před extrakcí (vzorek) – BR pufr pH 2 : říční voda : MeOH (1:1:98).

Extrahovaný/ měřený Objem [ml/ml]	c (ve vzorku) [mol · dm ⁻³]	Úsek [nA]	Směrnice [nA · mol ⁻¹ · dm]	Korelační koeficient	L _Q [mol · dm ⁻³]
100/1	$(2-10) \cdot 10^{-7}$	1,45	$-1,71 \cdot 10^7$	0,99516	$2 \cdot 10^{-7}$

4.2 Stanovení Fomesafenu pomocí Adsorpční rozpouštěcí voltametrie

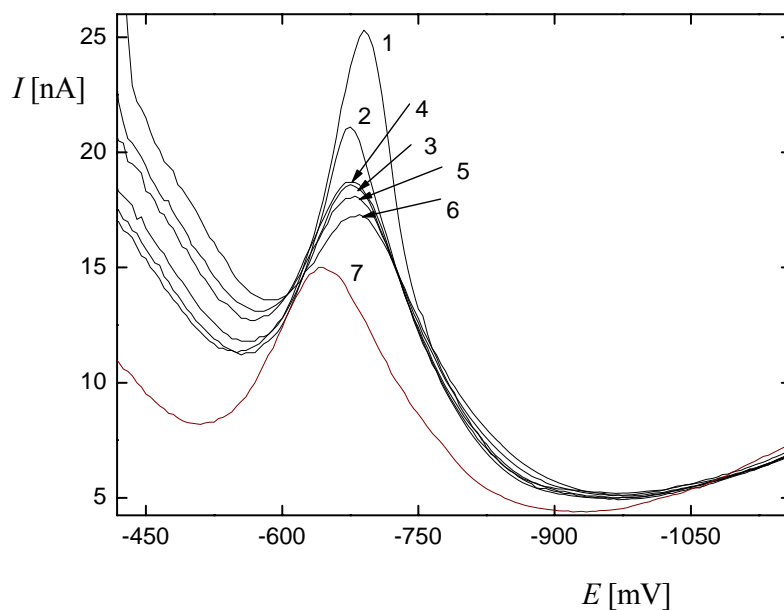
Byl učiněn pokus o snížení meze stanovitelnosti Fomesafenu pomocí adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV) na povrchu m-AgSAE. Po provedené akumulaci látky pomocí adsorpce bylo provedeno stanovení FM (standardně) pomocí DPV/m-AgSAE.

Ve snaze docílit co nejvyšší akumulace látky na povrchu elektrody byla provedena optimalizace adsorpce. Optimalizace spočívala v proměření vlivu potenciálu adsorpce v rozsahu 0 až -600 mV, tedy v potenciálové oblasti předcházející samotný pík FM, za dostatečně dlouhého času adsorpce t_{dep} 180 s na výšku píku Fomesafenu. Navýšení píku stanovení Fomesafenu vlivem adsorpce bylo porovnáno vůči výšce píku bez adsorpce – „referentní hodnotou“. Zároveň byl testován vliv pH prostředí - závislost adsorpce na potenciálu adsorpce byla proměřena v kyselém prostředí pH 2 (ve kterém Fomesafen při stanovení pomocí DPV/m-AgSAE poskytoval nejvyšší signál) a dále při pH 8.

Při proměření závislosti výšky píku Fomesafenu na různém potenciálu adsorpce v kyselém prostředí pH 2 docházelo k postupnému přibližně konstantnímu poklesu signálu s potenciálem adsorpce zvyšujícím se do záporných čísel. Při nulovém potenciálu byl signál nejvyšší a dosahoval zhruba dvojnásobné výšky vůči referentní hodnotě. Od potenciálu -300 mV byla výška píku již v zásadě srovnatelná s referentní hodnotou (Obr. 4.34, příslušné voltamogramy závislosti viz Obr. 4.33).

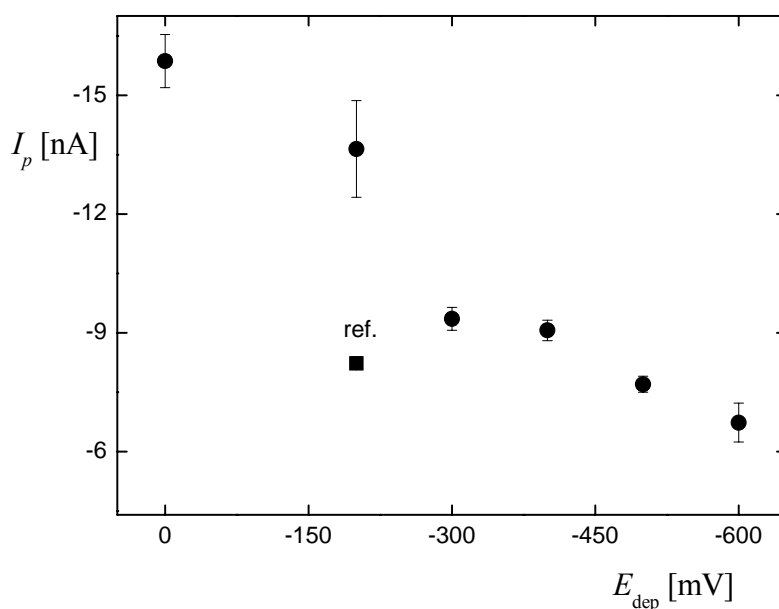
Závislost výšky píku Fomesafenu na různém potenciálu adsorpce v zásaditém prostředí pH 8 měla naopak (nelineárně) stoupající trend, avšak výška píku Fomesafenu byla nižší než referentní hodnota v celém proměřeném rozsahu potenciálu adsorpce. (Obr. 4.36, příslušné voltamogramy závislosti viz. Obr. 4.35).

Přestože bylo pomocí AdSV dosaženo cca dvojnásobného navýšení signálu, není navýšení dostatečně významné, aby došlo ke snížení meze stanovitelnosti o jeden či půl koncentračního řádu a mez stanovitelnosti dosažená pomocí AdSV by byla řádově srovnatelná s mezí stanovitelnosti již dosaženou pomocí DPV/m-AgSAE. V takovém případě nemá využití AdSV při stanovení FM opodstatnění a bylo od něj upuštěno.



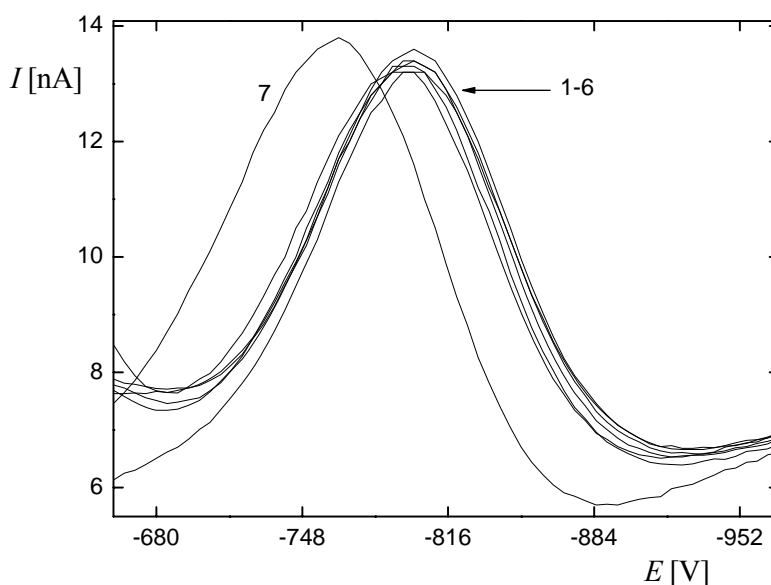
Obr. 4.33

Záznam DP voltamogramů stanovení FM ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) na m-AgSAE v prostředí BR pufr pH 2 : MeOH (9:1) měřených po adsorpci při různých potenciálech adsorpce E_{dep} . Zobrazené křivky odpovídají adsorpci při následujících potenciálech adsorpce [mV]: 0 (1), -200 (2), -300 (3), -400 (4), -500 (5), -600 (6) a referentní (7). Čas adsorpce t_{dep} (pro křivky 1 až 6) byl 180 s. Referentní křivka (7) byla získána bez adsorpce.



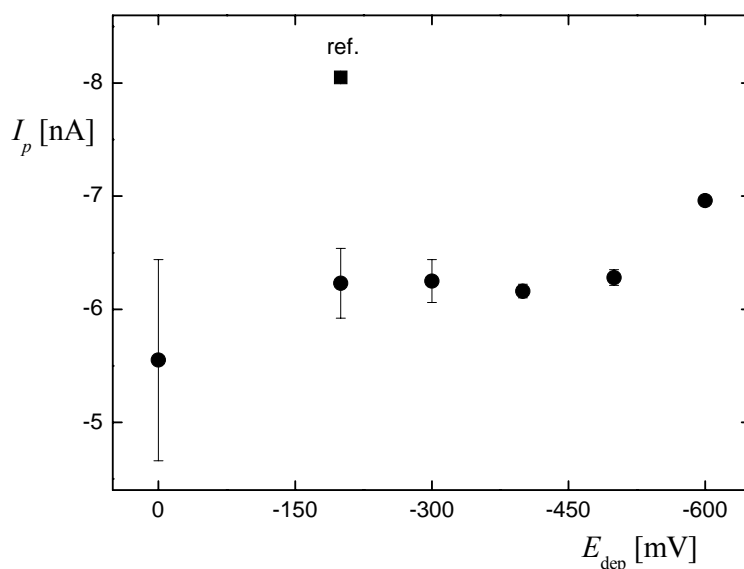
Obr. 4.34

Závislost výšky píku DPV stanovení FM ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) na m-AgSAE na potenciálu adsorpce E_{dep} v prostředí BR pufr pH 2 : MeOH (9:1) po provedení adsorpce. Čas adsorpce (t_{dep}) byl 180 s. Referentní hodnota (ref.) odpovídá výšce píku FM měřené za stejných podmínek, ale bez předchozí adsorpce.



Obr. 4.35

Záznam DPV křivek FM ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) na m-AgSAE v prostředí BR pufr pH 8 : MeOH (9:1) měřených po adsorpci při různých potenciálech adsorpce E_{dep} . Zobrazené křivky odpovídají adsorpci při následujících potenciálech adsorpce [mV]: 0 (1), -200 (2), -300 (3), -400 (4), -500 (5), -600 (6) a referentní (7). Čas adsorpce t_{dep} (pro křivky 1 až 6) byl 180 s. Referentní křivka (7) byla měřena bez předchozí adsorpce.



Obr. 4.36

Závislost výšky píku DPV stanovení FM ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) na m-AgSAE na potenciálu adsorpce E_{dep} v prostředí BR pufr pH 8 : MeOH (9:1) po provedení adsorpce. Čas adsorpce (t_{dep}) byl 180 s. Referentní hodnota (ref.) odpovídá výšce píku FM měřené za stejných podmínek, ale bez předchozí adsorpce.

4.3 Diskuze

Ze studie vlivu množství methanolu na velikost signálu při stanovení Fomesafenu technikou DPV/m-AgSAE bylo zjištěno, že při vysokých koncentracích FM (cca 10^{-5} mol · dm⁻³ a více) ve vodném roztoku dochází se zvyšujícím se množstvím methanolu v roztoku ke zvyšování signálu látky při stanovení, ovšem jen do určitého množství methanolu v roztoku, s dalším přidavkem methanolu pak dochází ke snižování signálu Fomesafenu při jeho stanovení. Naopak při nižších koncentracích Fomesafenu ve vodném roztoku (cca 10^{-5} mol · dm⁻³ a méně) dochází s přidavkem methanolu pouze ke snižování signálu Fomesafenu při jeho stanovení.

Takové chování odpovídá nízké rozpustnosti Fomesafenu ve vodě a dobré rozpustnosti Fomesafenu v methanolu. Při relativně vysokých koncentracích Fomesafenu ve vodě nedojde k rozpuštění celého množství Fomesafenu a přidavek methanolu umožní rozpuštění zbývající látky. Z toho důvodu dochází k zvýšení signálu při jeho stanovení. Při relativně nízkých koncentracích FM ve vodném roztoku je naopak veškerá přítomná látka rozpuštěna a další přidavek methanolu již nemá za následek přechod další látky do roztoku.

Snižování signálu Fomesafenu s rostoucím množstvím methanolu v roztoku od okamžiku, kdy veškerá přítomná látka přešla do roztoku spolu s pozorovaným jevem posunu potenciálu píku Fomesafenu do zápornějších hodnot se zvyšujícím se množstvím methanolu v roztoku naopak vypovídá o skutečnosti, že methanol působí jako bariéra při přenosu elektronu při elektrodové reakci. Růst potenciálu píku Fomesafenu do záporných hodnot se zvyšujícím se množstvím methanolu v roztoku vypovídá o větším množství energie, které je třeba vynaložit na přenos elektronu při elektrodové reakci.

Při měření Fomesafenu ve vodných matricích byla proto snaha minimalizovat při měření množství methanolu v roztoku, aby nedocházelo zbytečně ke ztrátě citlivosti metody.

Přímým stanovením bylo v pitné i říční vodě dosaženo srovnatelné citlivosti, v obou případech bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-6}$ mol · dm⁻³, jakkoliv v říční vodě byly záznamy voltamogramů více zatíženy šumem. Při srovnání přímého stanovení s mezí stanovitelnosti dosažené v modelovém prostředí v destilované vodě při standardizaci metody v bakalářské práci ($1 \cdot 10^{-6}$ mol · dm⁻³; [1]) odpovídá mez stanovitelnosti optimalizovaného modelového stanovení mezi stanovitelnosti dosažené přímým stanovením v pitné i říční vodě. Kalibrační závislosti obdržené přímým stanovením v matricích pitné a říční vody jsou lineární a uspokojivě opakovatelné.

Při extrakcích se podařilo snížit mez stanovitelnosti díky možnosti prekoncentrace, kterou extrakce nabízí. Extrakce ze 100 ml vodné matrice, ať se jednalo o destilovanou, pitnou či říční vodu, dosahovaly všechny srovnatelné meze stanovitelnosti přibližně a průměrně $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Ani zvýšením stupně prekoncentrace o jeden řád z 10 na 100 nedošlo s výjimkou pitné vody ke snížení meze stanovitelnosti, někdy dokonce naopak k mírnému zvýšení, jako například u destilované a říční vody. Nejnížší meze stanovitelnosti bylo dosaženo pomocí extrakce se stupněm prekoncentrace 10 z destilované vody, kde bylo dosaženo meze stanovitelnosti $7 \cdot 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, nejvyšší mez stanovitelnosti $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ byla naopak vyhodnocena pro extrakci z matrice pitné vody se stupněm prekoncentrace 10 a po extrakci z matrice říční vody se stupněm prekoncentrace 100. Jediná extrakce, u které se podařilo extrahovat a proměřit kalibrační závislost modelových vzorků v rozmezí koncentračního řádu $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ s uspokojivými výsledky byla extrakce z destilované vody se stupněm prekoncentrace 10. U všech ostatních extrakcí byly při pokusu o proměření koncentračního řádu $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ získány analyticky nevyužitelné/nevyhodnotitelné výsledky, resp. výsledky, jejichž vyhodnocení neumožnilo snížit mez stanovitelnosti FM. Pokus provést tyto extrakce byl tak v důsledku neúspěšný. Kalibrační závislosti u vyššího stupně prekoncentrace (100) měly tendenci být méně lineární a voltamogramy stanovení příslušejících kalibračním závislostem byly spíše více zašuměné. Kalibrace byly též obecně zatíženy vyšším signálem pozadí (kladný úsek kalibrační závislosti). Tento jev je patrně možné přičítat maticovým vlivům či nečistotám, které se při vyšším stupni prekoncentrace více projeví. Rovněž proveditelnost těchto kalibrací byla obtížnější a spolehlivost nižší než u stupně prekoncentrace 10 a účinnost (resp. výtěžek) extrakcí s prekoncentračním stupněm 100 byla obecně nižší než u prekoncentračního stupně 10. Přestože by vyšší stupeň prekoncentrace a (dostatečná) účinnost extrakce napovídaly získání nižší meze stanovitelnosti oproti extrakcím s prekoncentračním stupněm 10, nestalo se tak zřejmě z důvodu relativně vysokého šumu a vysokého signálu pozadí (kladný úsek kalibrační závislosti), ve kterém předpokládaný efekt vyšší prekoncentrace zanikl.

Při testování využití prekoncentrace pomocí metody AdSV byla prováděna optimalizace metody. Po proměření vlivu potenciálu adsorpce na zvýšení signálu stanovení Fomesafenu v kyselém a zásaditém prostředí bylo konstatováno, že se nepodařilo dosáhnout navýšení signálu, které by bylo dostatečné, aby mělo smysl metodu ke stanovení využívat.

Výsledky měření v rámci diplomové práce jsou přehledně shrnuty v Tab. 4.15.

Tab. 4.15

Tabulka s přehledem mezí stanovitelnosti dosažených metodou DPV/m-AgSAE při různých stanoveních, přímých či po předchozí extrakci, modelových či ve vodných matricích.

stanovení	matrice (voda)	účinnost ext. [%]	L_Q [mol · dm ⁻³]
Přímé	pitná	-	$1 \cdot 10^{-6}$
Přímé	říční	-	$1 \cdot 10^{-6}$
extrakce se st.prekonc. 10	destilovaná	41	$7 \cdot 10^{-8}$
extrakce se st. prekonc. 100	destilovaná	39	$1 \cdot 10^{-7}$
extrakce se st. prekonc. 10	pitná	23	$2 \cdot 10^{-7}$
extrakce se st. prekonc. 100	pitná	45	$1 \cdot 10^{-7}$
extrakce se st. prekonc. 10	říční	54	$1 \cdot 10^{-7}$
extrakce se st. prekonc. 100	říční	32	$2 \cdot 10^{-7}$

Pro účely srovnání výsledků dosažených v diplomové práci s předchozími stanoveními uvádím v následující tabulce (Tab. 4.16) výsledky dosažené v mé předchozí bakalářské práci [1].

Tab. 4.16

Přehled výsledků dosažených v rámci mé bakalářské práce (převzato [1]) v destilované vodě pomocí různých metod stanovení Fomesafenu.

Metoda stanovení	podmínky	L_Q [mol · dm ⁻³]
DPV/m-AgSAE	BR pufr o pH 8	$1 \cdot 10^{-6}$
DPV/HMDE	BR pufr o pH 2	$2 \cdot 10^{-6}$
DPP/DME	BR pufr o pH 8	$1 \cdot 10^{-6}$
UV-VIS/DAD	$\lambda = 293$ nm	$3 \cdot 10^{-6}$

5. Závěr

1) Byl proměřen vliv methanolu na výšku signálu stanovení Fomesafenu. Pro zajištění vyššího signálu Fomesafenu bylo na základě této studie pro navýšení signálu Fomesafenu přidáváno 30 % methanolu do roztoku o koncentraci Fomesafenu vyšší než $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

2) Bylo provedeno přímé stanovení Fomesfenu pomocí DPV na m-AgSAE ve vodných matricích:

a) V pitné vodě bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

b) V říční vodě bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

3) Byly provedeny extrakce Fomesafenu z modelových vzorků vodných matric s prekoncentračními stupni 10 a 100:

a) Extrakcí z destilované vody (modelová matrice) bylo s prekoncentračním stupněm 10 dosaženo meze stanovitelnosti $7 \cdot 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, účinnost extrakce byla 41 %.

b) Extrakcí z destilované vody bylo s prekoncentračním stupněm 100 dosaženo meze stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, účinnost extrakce byla 39 %.

c) Extrakcí z pitné vody (modelová matrice) bylo s prekoncentračním stupněm 10 dosaženo meze stanovitelnosti $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, účinnost extrakce byla 23 %.

d) Extrakcí z pitné vody bylo s prekoncentračním stupněm 100 dosaženo meze stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, účinnost extrakce byla 45 %.

e) Extrakcí z říční vody bylo s prekoncentračním stupněm 10 dosaženo meze stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, účinnost extrakce byla 54 %.

f) Extrakcí z říční vody bylo s prekoncentračním stupněm 100 dosaženo meze stanovitelnosti $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, účinnost extrakce byla 32 %.

4) Se záměrem snížení meze stanovitelnosti bez nutnosti extrakce byla testována metoda AdSV a prováděna její optimalizace. Bylo zjištěno, že pomocí AdSV nedošlo ke snížení meze stanovitelnosti v míře, která by zakládala smysl pro využívání této metody (signál Fomesafenu byl navýšen přibližně na dvojnásobek) .

6. Literatura

- 1) Maška J.: *Polarografické a voltametrické stanovení Fomesafenu*. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2012.
- 2) U.S. Environmental Protection Agency: Fomesafen Sodium: Human Health Risk Assessment for a Proposal to Amend Use on Soybeans, and Proposals to Add Uses on Cotton, Dry Bean, and Snap Bean, PC Code: 123802, Petition Nos: 1E6228, 9F50568, 6E4653, DP Barcode D325797 (February 28, 2006), EPA-HQ-OPP-2006-0239-0005 (U.S. EPA 2006).
- 3) U.S. Environmental Protection Agency: Fomesafen: HED Registration Review Problem Formulation Document (February 28, 2007), EPA-HQ-OPP-2006-0239-0004 (U.S. EPA 2007).
- 4) http://www.zhechem.net/html/Products/herbicides/show_107.html, staženo 28. 4. 2011.
- 5) <http://www.fluoridealert.org/pesticides/fomesafen.toxnet.hsdb.htm>, staženo 28. 4. 2011.
- 6) <http://www.greenfacts.org/glossary/def/epa-cancer-classification.htm#a3>, staženo 12. 5. 2011.
- 7) <http://www.fluoridealert.org/pesticides/epage.fomesafen.htm>, staženo 28. 4. 2011.
- 8) Caquet T., Deydier-Stephan L., Lacroix G., Le Rouzic B., Lescher-Moutoué F.: *Environ Toxicol Chem.* 24, 1116 (2005).
- 9) U.S. Environmental Protection Agency: Registration Review – Ecological Risk Assessment Problem Formulation for Fomesafen, EPA-HQ-OPP-2006-0239-0007 (U.S. EPA 2006).
- 10) U.S. Environmental Protection Agency: Ecological Risk Assessment for Use of Fomesafen on Cotton (DP302766), Snap Beans (DP314014) and Dry Beans (DP314112) (January 2006), EPA-HQ-OPP-2006-0239-0009 (U.S. EPA 2006).
- 11) <http://www.fluoridealert.org/pesticides/fomesafen--all-page.htm>, staženo 28. 4. 2011.
- 12) Akiyama Y., Matsuoka T., Mitsuhashi T.: *Pestic. Sci.* 34, 265 (2009).
- 13) Sancho J.V., Pozo O.J., Hernández F.: *Analyst* 129, 38 (2004).
- 14) Lagana A., Fago G., Marino A., Penazzi V.M.: *Anal. Chim. Acta* 415, 41 (2000).
- 15) Struger, J., Grabuski, J., Cagampan, S., Rondeau, M., Sverko, E., Marvin, C.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 87, 420 (2011).
- 16) Xue, B., Zhang, Y., Wang, J., Wang, B.: *5th International Conference Bioinformatics and Biomedical Engineering – ICBBE. Wuhan, 10-12 May 2011*, Conference Proceedings Book, pp. 1-4, Wuhan 2011.

- 17) Campbell, D., Overmyer, J., Bang, J. S., Perine, J., Brain, R.: *242nd Meeting of the American-Chemical-Society: Symposium on the Endangered Species Act and Pesticide Regulation: Scientific and Process Improvements, Denver, 30. Aug. – 1. Sept. 2011.* Pesticide Regulation and the Endangered species Act (Book Series: ACS Symposium Series), (Racke, K. D., McGaughey, B. D., Cowles, J. L., Hall, A. T., Jakson S. H., Jenkins, J. J., Jonston, J. J., eds.), volume 1111, pp. 119-137, American Chemical Society, Washington 2012.
- 18) Heyrovský J.: Chem. Listy 16, 256 (1922).
- 19) Vydra F., Štulík K., Juláková E.: *Rozpouštěcí polarografie a voltametrie*. SNTL, Praha 1997.
- 20) Kalvoda R., Kopanica M.: Pure Appl. Chem. 61, 97 (1989).
- 21) <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002L0095:20080524:EN:PDF>, staženo 29. 4. 2011.
- 22) <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:304:0075:0079:EN:PDF>, staženo 29. 4. 2011.
- 23) http://www.europarl.europa.eu/meetdocs/2004_2009/documents/pr/585/585664/585664en.pdf, staženo 20. 4. 2011.
- 24) Novotný L., Yosypchuk B.: Chem. Listy 94, 1118 (2000).
- 25) Mikkelsen, O., Schroder, K.: Anal. Lett. 33, 3253 (2000).
- 26) Yosypchuk, B., Barek J., Fojta M.: Electroanalysis 18, 1126 (2006).
- 27) Deylova, D., Vyskocil, V., Barek, J., Economou, A.: Talanta 102, 68 (2012).
- 28) Barbosa, A. M. J., de Araujo, T. A., Trindade, M. A. G., Ferreira, V. S.: J. Electroanal. Chem. 681, 127 (2012).
- 29) Yosypchuk, B., Barek J. Crit. Rev. Anal. Chem. 39: 189 (2009).
- 30) Yosypchuk, B., Navratil T., Lukina A. N., Peckova K., Barek J.: Chem. Anal. 52, 897 (2007).
- 31) Zima, J., Svancara I., Barek J., Vytras K.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 204 (2009).
- 32) Yosypchuk, B., Sestakova I.: Electroanalysis 20, 426 (2008).
- 33) Niaz, A., Fischer, J., Barek, J., Yosypchuk, B., Sirrajuddin, Bhanger, M. I. Electroanalysis 21, 1786 (2009).
- 34) Danhel, A., Mansfeldova, V., Janda, P., Vyskocil V., Barek J.: Analyst 136, 3656 (2011).
- 35) Yosypchuk, O., Barek, J., Yosypchuk, B.: Electroanalysis 24, 2230 (2012).
- 36) Bi, Z., Salauen, P., van den Berg, C. M. G.: Anal. Chim. Acta 769, 56 (2013).

- 37) Aragay, G., Puig-Font, A., Cadevall, M., Merkoci, A.: J. Phys. Chem. 114, 9049 (2010).
- 38) Kapturski, P., Bobrowski, A.: Electroanalysis 19, 1863 (2007).
- 39) Mokrousov, G., Knyazeva, E., Maliy, L.: J. Solid State Electrochem. 16, 2429 (2012).
- 40) Zhang, L., Li, D. W., Song, W., Shi, L., Li, Y., Long, Y. T.: IEEE Sens. J. 10 1583 (2010).
- 41) Sýkora V., Zátka V.: *Příruční tabulky pro chemiky*, str. 149. SNTL, Praha 1967.
- 42) Eckschlager K.: *Chemometrie*. Karolinum, Praha 1991.